FACULTÉ DE MÉDECINE DE DIJON

ANNÉE 1977 THÈSE N° 125

LES ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES FROIDS

Caractéristiques. Etude dans les gammapathies monoclonales, dans les cancers du nasopharynx et chez les receveurs d'allogreffes rénales.

THÈSE

présentée

à la Faculté de Médecine de DIJON

et soutenue publiquement le 22 Novembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jean-Marc CHALOPIN

né le

18 Juin 1946 à DIJON (Côte d'Or)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546819_0026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE DIJON

ANNÉE 1977 THÈSE N° :

LES ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES FROIDS

Caractéristiques. Etude dans les gammapathies monoclonales, dans les cancers du nasopharynx et chez les receveurs d'allogreffes rénales.

THÈSE

présentée

à la Faculté de Médecine de DIJON

et soutenue publiquement le 22 Novembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jean-Marc CHALOPIN

né le

18 Juin 1946 à DIJON (Côte d'Or)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PERSONNEL DE LA FACULTE

M. J.B. BOUHEY : Doyen
M.A. MARIN : Assesseur
M.R. PUTELAT : Assesseur
M. J.P. DIDIER : Assesseur
M. J. GUERRIN : Assesseur

M.J. GUYOT : Professeur Honoraire
M.F. BARON : Professeur Honoraire
Mlle G. PALLOT : Professeur Honoraire

Professeurs titulaires

Anatomie et organogénèse : P. BARRY
Anatomie pathologique : R. MICHIELS
Biochimie : P. PADIEU
Biophysique : P. GAILLIARD
Carcinologie : F. CABANNE, Doyen honoraire
Clinique chirurgicale : H. VIARD
Clinique médicale : P. CORTET
Clinique gynécologique et obstétricale : J. JAHIER
Clinique médicale infantile : M. ALISON
Clinique neuropsychiatrique : J. BALLIVET
Hépatologie-gastro-entérologie : Cl. KLEPPING
Histologie : G. RUCART
Maladies infectieuses : F. DESTAING
Médecine légale et toxicologie : A. MARIN
Pathologie chirurgicale : C. FERRY
Pathologie médicale : R. PUTELAT
Physiologie : J. KLEPPING
Sémiologie médicale : J.B. BOUHEY

Professeurs sans chaires

Biochimie : J. DEDREUX
Carcinologie : J. GUERRIN
Hématologie et Maladies du sang : A. DUZER
Médecine préventive et Santé publique, Hygiène : M. CARON
Parasitologie : Mme Y. ROUGET
Chirurgie générale : P. AUPECLE
Radiologie (diagnostic) : J.P.MABILLE
Histologie : P. ZAHND

Maîtres de Conférences agrégés

Anatomie et Organogénèse : J.M. AUTISSIER
Anesthésiologie : B. CAILLARD
Bactériologie, virologie : A. KAZMIERCZAK
Chirurgie générale : S. BRIET
G. PIGANIOL
Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire : M. DAVID
Gynécologie et obstétrique : J. SALASC
J.P. FELDMAN
Hématologie et Maladies du sang : J. BONHOMME
Mathématiques, statistiques informatique médicale : Mme DUSSERR
Médecine expérimentale, Immunologie : F. MARTIN
Médecine interne : M. GAUDET
P. LOUIS
Néphrologie : G. RIFLE
Neurochirugie : A. THIERRY
Neurologie : R. DUMAS
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique et reconstructive : P. GRAMMONT
Parasitologie : P. CAMERLYNCK
Pédiatrie et Génétique médicale : J.L. NIVELON
Pharmacologie : A. ESCOUSSE
Physiologie : J.P. DIDIER
Pneumologie, Phtisiologie : L. JEANNIN
Psychiatrie : P. TRAPET
Radiologie, radiodiagnostic : M. WEILLER
D. BINNERT
Radiologie, radiothérapie : J.C. HORIOT
Rhumatologie : J. STRAUSS

Agrégés libres

Dermatologie, Vénéréologie : J.L. CHAPUIS
Ophtalmologie : P.G. MOREAU

La Faculté de Médecine de Dijon déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

JURY DE LA THESE

Président Monsieur le Professeur P. CORTET

Membres Monsieur le Professeur P. PADIEU
Monsieur le Professeur Agrégé F. MARTIN
Monsieur le Professeur Agrégé G. RIFLE

Membre invité
Monsieur le Professeur Agrégé J.P. REVILLARD

Aux Membres de notre jury que nous remercions de l'honneur qu'il nous font en voulant bien juger ce travail.

A Monsieur le Professeur P. CORTET, Professeur de Clinique Médicale.

Nous lui sommes reconnaissant de tout ce qu'il nous a apporté. Nous nous réjouissons de pouvoir travailler à ses côtés.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Monsieur le Professeur J. TRAEGER et à Monsieur le Professeur Agrégé J.P.REVILLARD pour l'accueil qu'ils nous ont réservé à la Clinique de Néphrologie et des Maladies Métaboliques du CHU de LYON et au Laboratoire d'immunologie de transplantation (Unité INSERM U80). Les deux premières parties de ce travail ont été réalisées dans ce laboratoire et dans le laboratoire d'histocompatibilité du Docteur H. BETUEL.

La troisième partie de cette étude a été réalisée dans le Laboratoire d'Immunologie de Transplantation (Unité de Néphrologie - C.H.U. de Dijon).

Elle n'aurait pu être menée à bien sans l'amitié bienveillante du Professeur Agrégé A. KAZMIERCZAK qui a mis à notre disposition les moyens techniques qui nous faisaient défaut.

L'aide technique de Monique FLACHER et de Françoise AUTRIC-DEYCAS (Lyon) d'Eliane SIEBOR (Dijon) nous a été très précieuse.

INTRODUCTION

Des anticorps antilymphocytaires cytotoxiques à 15°C en présence de complément de lapin (ALTF) ont été mis en évidence in vitro d'abord dans le sérum de sujets atteints d'infections virales (MOTTIRONI et TERASAKI, 1970) puis dans une trentaine de circonstances physiologiques ou pathologiques. Ces anticorps ont été partiellement caractérisés, ils apparaissent différents des anticorps dirigés contre les antigènes du système HLA.

Nous avons recherché et étudié ces anticorps dans le sérum de patients ayant une gammapathie monoclonale, un cancer du nasopharynx et chez des receveurs d'allogreffe rénale.

Dans une première partie nous exposons les techniques que nous avons utilisées pour détecter ces anticorps. Après avoir précisé les paramètres qui influencent les résultats de la réaction cytotoxique en présence de complément de lapin, nous avons défini les critères permettant de considérer un sérum comme positif.

Les résultats obtenus dans les trois circonstances pathologiques étudiées et leurs significations font l'objet de la seconde partie.

Enfin à travers les données de la littérature et nos propres résultats nous essayerons dans la dernière partie de préciser les conditions d'apparition de ces anticorps et leurs caractéristiques puis d'envisager en particulier dans les situations cliniques étudiées leur signification et leur rôle.

PREMIERE PARTIE

METHODES D'ETUDE DES ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES FROIDS (ALTF)

MOTTIRONI et TERASAKI ont, en 1970, signalé la présence dans le sérum de sujets atteints d'une mononucléose infectieuse d'anticorps antilymphocytaires cytotoxiques à 15°C en présence de complément de lapin, sans spécificité HLA. NAITO et coll. ont montré peu de temps après que ces anticorps étaient de classe IgM et avaient une activité d'auto anticorps.

Nous exposons dans cette première partie, les méthodes que nous avons utilisées pour étudier des anticorps ayant de telles propriétés dans les trois circonstances pathologiques que nous avons choisies.

I -METHODES DE DETECTION DES ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES FROIDS (ALTF)

A - La Lymphocytotoxicité

La méthode que nous avons utilisée pour mettre en évidence les ALTF est dérivée de celle proposée par TERASAKI (1970). Il s'agit d'un test de cytotoxicité in vitro qui ne diffère de celui utilisé pour les groupages leucocytaires (MITTAL et coll. 1968) que par des conditions de température, de temps d'incubation, de milieu qui modifient l'action du complément de lapin. Il s'agit d'une technique en 2 temps : dans un premier temps on met en contact la suspension cellulaire et le sérum, dans un second temps on ajoute le complément de lapin.

Quand la réaction est positive les lymphocytes sont lysés sous l'action conjuguée des anticorps et du complément.

1) Technique de la lymphocytotoxicité :

a) Les suspensions lymphocytaires :

-Préparation des suspensions cellulaires

Les lymphocytes utilisés proviennent d'adultes cliniquement sains (donneurs de sang ou personnel médical et para-médical) de phénotype HLA connu. 20 ml de sang veineux sont collectés sur 1 ml d'héparine (Roche - 2,5 mg/ml) mis dans une étuve à 37°C pendant 20 mn puis filtrés sur une colonne de nylon (2 g, Rhodiaceta TD_3, Roger BELLON, Neuilly, réf. LB 035/B). Les polynucléaires, les plaquettes et la majorité des monocytes sont retenus sur le nylon. Le sang recueilli est mélangé à raison de 9 volumes pour un volume avec du dextran à 50 mg/l (Dextran T 500, Pharmacie Uppsala, Suède). Les globules rouges sont éliminés par sédimentation à 20°C pendant 45 mn puis par hémolyse du surnageant par le chlorure d'ammonium 8,7 g/l pendant 10 mn à 20°C (3 volumes pour un volume de surnageant). Après centrifugation à 4°C à 250g pendant 10 mn

les cellules sont lavées 2 fois dans du liquide de Hanks.

Dans l'étude réalisée chez les transplantés rénaux les lymphocytes ont été isolés sur gradient de Ficoll. Le filtrat obtenu après passage sur colonne de nylon est centrifugé sur un mélange de Ficoll Isopaque : Ficoll : 250 ml à 7, 6 % (Pharmacia Fine Chemical), Isopaque 350 : 50 ml (Whinthrop) ; la densité est comprise entre 1,078 et 1,080. 30 ml de sang filtré en dilution au 1/2 dans du liquide de Hanks sont centrifugés sur 20 ml de Ficoll Isopaque à 400 g pendant 20 mn à 18°C. Après centrifugation les lymphocytes sont récupérés à l'interface Hanks-Ficoll et lavés 2 fois dans du Hanks.

Les lymphocytes obtenus par l'une ou l'autre des deux méthodes sont alors soigneusement resuspendus dans le milieu utilisé pour le test de lymphocytotoxicité.

- Viabilité et qualité des suspensions

Le nombre et la qualité des cellules obtenues par les deux méthodes sont comparables.

Pour 20 ml de sang la quantité de lymphocytes obtenue varie de 7×10^6 à 18×10^6 cellules. Sous le microscope les suspensions apparaissent contenir plus de 95 % de lymphocytes.

La viabilité cellulaire est contrôlée par le test d'exclusion du bleu trypan. A 0,200 ml de la suspension cellulaire sont ajoutés 0,005 ml d'une solution à 1 % de bleu trypan préparé extemporanément. Après 10 mn au bain marie à 37°C le pourcentage de cellules viables (excluant le bleu trypan) est déterminé dans une cellule de Thomas sous le microscope. Il est supérieur à 95 %.

Nous avons cherché le pourcentage formant des rosettes E réalisée selon la technique de PANG (1974). On mélange volume à volume une suspension 2×10^6 lymphocytes par ml et une suspension d'érythrocytes de mouton (Biomérieux) à 2×10^8 cellules par ml dans du liquide de Hanks contenant 15% de sérum de veau foetal. Le mélange est incubé 15 mn à 37°C puis centrifugé 5 minutes à 200 g. Après incubation de 12 h. à 4°C,

le pourcentage de rosette est compté en cellule de MALASSEZ. Les lymphocytes fixant 2 ou plus de 2 globules rouges sont comptés comme rosettes. 80 à 90 % des lymphocytes obtenus forment des rosettes E.

b) Le complément :

Le complément provient d'un pool de lapins saignés par ponction intracardiaque. Après formation du caillot le sérum est collecté, mélangé puis conservé à -70°C dans des tubes de 1 ml. Chaque lot est testé pour vérifier son absence de cytotoxicité contre les lymphocytes humains et pour contrôler son activité en présence de sérum anti HLA contre un panel de donneurs. Ce sérum de lapin est utilisé non absorbé.

c) La réaction :

Dans chaque puits d'une microplaque de TERASAKI (FALCON-Microtest plaque n° 3034) remplie avec 7 ml d'huile minérale, 0,001 ml de la suspension de lymphocytes (1000 à 2000 lymphocytes) est introduit à l'aide d'une seringue Hamilton.

Après la préincubation le complément est introduit également avec une seringue Hamilton et l'incubation est poursuivie. L'utilisation du bleu trypan nécessite une décantation qui peut être réalisée par aspiration de chaque puits avec une pipette Pasteur ou plus simplement en retournant et en secouant fortement la plaque. 0,001 ml de bleu trypan préparé extemporanément est alors ajouté.

d) Résultats :

La lecture est réalisée sous microscope au grossissement x 25. Les lymphocytes vivants sont petits et brillants, les lymphocytes morts sont bleus et étalés. Le résultat de chaque réaction est côté selon le pourcentage de cellules lysées :
- moins de 10 % de cellules lysées, + 20 à 40 %, ++ 40 à 60 %, +++ 60 à 80 % et ++++ 80 à 100 %.

2) Etude des paramètres influençant la réaction de lymphocytotoxicité

a) La température d'incubation de 15°C tient compte à la fois des conditions d'activation du complément de lapin et de la faible activité de ces anticorps qui ne permet une fixation qu'à basse température. Les tests réalisés à des températures variables avec des sérums et des suspensions cellulaires identiques montrent cette dépendance de la cytotoxicité vis à vis de la température (Tableau I)

b) La réaction nécessite la présence du complément. Les tests réalisés avec du sérum de lapin inactivé par la chaleur (30 mn à 56°C) sont négatifs ce qui permet d'affirmer la nature immunologique de la lyse cellulaire observée. La nature et la concentration du sérum apportant le complément sont déterminantes (Tableau II). Seul le complément de lapin employé à 3µl ou 4 µl permet de détecter tous les sérums positifs, les sérums humains et de cobaye sont insuffisants, ce qui indique que la source de complément doit apporter en outre des anticorps naturels anti-lymphocytaires pour que la réaction ait lieu : on sait que la présence de ces anticorps est nécessaire pour la lymphocytotoxicité par les anticorps HLA (PERRONE et coll.,1971).

c) L'incubation est réalisée en deux temps. La pré-incubation en l'absence de complément ne semble pas influencer directement la réaction, le second temps au contraire conditionne directement les résultats et une durée de 3 h 30 correspond à une sensibilité maximum avec la source de complément que nous utilisons (Tableau III).

d) La durée du test nous a conduit initialement à resuspendre les lymphocytes dans un milieu riche en protéines. Cependant certains sérums introduits dans ce but (sérum de veau foetal, sérum humain AB) contiennent parfois des anticorps antilymphocytaires. Il est donc préférable d'utiliser le milieu RPMI 1640 qui permet à lui seul une bonne survie des lymphocytes pendant 3 h 30 à 15°C (Tableau IV)

Température d'incubation en °C	Sérums de Gammapathies			Sérum anti HLA A01 *
	n° 4	n° 36	n° 208	
4	—	—	—	—
10	+	—	—	—
15	+++	+	++	—
22	+	—	—	+
37	(+)	—	—	+++

TABLEAU I : Rôle de la température sur la réaction de lymphocytotoxicité (les tests sont conduits d'une manière identique à toutes les températures. La durée de la seconde incubation est de 3 heu

* La suspension lymphocytaire utilisée est du groupe HLA A01 A02 B08

ORIGINE ET CONCENTRATION DU COMPLEMENT	SERUMS DE GAMMAPATHIES		
	n° 4	n° 36	n° 57
Lapin 0,001 ml	-	+++	-
Lapin 0,002 ml	-	+++	-
Lapin 0,003 ml	++	++++	-
Lapin 0,004 ml	+++	++++	-
Lapin 0,004 ml (chauffé 56°C 30 mn)	-	-	-
Cobaye 0,004 ml	-	-	-
Humain 0,004 ml	-	-	-

TABLEAU II : Rôle de l'origine et de la concentration du sérum apportant le complément dans la réaction de lymphocytotoxicité.

Milieu	Sérums de gammapathies			Témoin
	n° 4	n° 36	n° 57	
RPMI + SVF a	++	++++	++	++
RPMI + SVF b	++	++++	—	—
RPMI + ABa	++++	++++	++++	++++
RPIMI + ABb	+	++	—	—
RPMI	+++	+++	—	—

TABLEAU III : Rôle du milieu d'incubation dans la réaction de lymphocytotoxicité.

SVF : Sérum de veau foetal

AB : Sérum humain groupe AB

a : sérum contenant des ALTF

b : sérum ne contenant pas d'ALTF

Durée d'incubation	Sérums de gammapathies			Témoin
	n° 4	n° 36	n° 57	
1 h	-	-	-	-
3 h 30	++	+++	-	-
5 h	+++	+++	+	++
15 h	++++	+++	+++	+++

TABLEAU IV : Rôle de la durée de l'incubation en présence de complément sur la réaction de lymphocytotoxicité.

e) Il existe une variation très importante de la réactivité des cellules cibles vis à vis de ces anticorps. Certains sérums peuvent apparaître négatifs avec une suspension, positifs avec une suspension plus sensible (Tableau V)

f) L'influence de la concentration en sérum sur la toxicité permet de distinguer trois types de sérum.

- des sérums qui restent positifs à plusieurs dilutions
- des sérums positifs seulement lorsqu'ils sont testés purs.
- quelques sérums sont négatifs lorsqu'ils sont utilisés purs et deviennent positifs à une dilution élective. Certains de ces cas correspondent à un pouvoir anticomplémentaire du sérum (Tableau VI).

3) Protocole utilisé :

Le test est réalisé à 15°C : 1 µl de sérum est incubé 30 mn en présence de 1500-2000 lymphocytes en suspension dans 1 µl de milieu RPMI 1640. Après addition de 4 µl de complément de lapin l'incubation est poursuivie 3 h 30.

Chaque test est en outre réalisé à 22° et 37°C. Les incubations sont alors réalisées à 22° et 37°C mais la durée de la seconde est ramenée à 1 h.

4) Interprétation des résultats

Trois paramètres sont variables pour chaque sérum testé :

- le pourcentage de cellules lysées sur une suspension
- le nombre de suspensions sensibles
- la dilution à laquelle ce sérum reste positif.

Selon les critères de TERASAKI un sérum est positif s'il lyse au moins 20 % des cellules sur plus de 10 % des suspensions. Cette définition ne rend pas compte de la force de

Groupe HLA de la suspension	Dilution µl	Sérums de gammapathies				
		n° 199	n° 200	n° 204	n° 208	n° 356
A01 A02- B08 W5	1	+++	++	++++	+++	+++
	1/2	++	—	++++	+	—
	1/4	—	—	++++	+	—
	1/8	—	—	++++	—	—
A02 A09 - W 21	1	++	—	++++	++	+
	1/2	—	—	++++	—	—
	1/4	—	—	++++	—	—
	1/8	—	—	++++	—	—
A 01 A 03 - B 07	1	+++	—	++++	+++	++
	1/2	++	—	++++	+	—
	1/4	—	—	++++	—	—
	1/8	—	—	++++	—	—

TABLEAU V : Rôle de la suspension lymphocytaire sur la réaction de lymphocytotoxicité. Variations du titre en fonction de la suspension lymphocytaire.

Sérums \ Dilution en µl	3	2	1	1/2	1/4	1/8
Test à 15 ° C						
n° 4	+	+	++	—	—	—
n° 36	+++	+++	+++	+++	+++	++
n° 48	—	—	—	—	+++	+
Test à 37° C						
anti HLA A01 + sérum physiologique sur suspension HLA A01, A02, B08	++++	++++	++++	++	—	—
anti HLA A01 + sérum n° 48 sur suspension HLA A01 A02 B08	—	—	—	++	—	—

TABLEAU VI : Rôle de la concentration en sérum sur la réaction de lymphocytotoxicité. Dépistage des sérums anticomplémentaire

l'activité cytotoxique de chaque sérum. D'autres auteurs (KORSMEYER 1975) expriment les résultats en pourcentage de suspensions positives. L'étude des caractéristiques des sérums permet en fait de distinguer deux catégories parmi les sérums positifs (MAYER et coll., 1973, SPENGLER et coll., 1972). Des sérums faibles où le pourcentage de lyse dépasse rarement 40 % sur un peu plus de 10 % des suspensions et qui sont négatifs sur les autres suspensions et des sérums forts où le pourcentage de cellules lysées est de l'ordre de 80 % dans la plupart des suspensions. En outre seuls les sérums forts restent positifs en dilution. Il existe un lien étroit entre les trois paramètres.

Nos sérums seront donc classés en 3 groupes :
- négatifs s'ils tuent moins de 20 % de cellules sur moins de 10 % des suspensions lymphocytaires du panel - Faiblement positifs s'ils tuent moins de 50 % des cellules sur moins de 50 % des suspensions lymphocytaires - fortement positifs s'ils tuent plus de 50 % des cellules de plus de 50 % des suspensions. En réalité les sérums faiblement positifs tuent environ 20 % des cellules sur 20 % de suspension et les sérums fortement positifs environ 80 % de cellules sur la majorité des suspensions.

Dans le cas des sérums de cancer du nasopharynx pour quantifier plus exactement la force d'un sérum nous avons étudié le titre de chaque sérum sur les différentes suspensions du panel. Comme ce titre varie avec chaque suspension nous avons défini pour chaque sérum le titre géométrique moyen de la dernière dilution donnant 20 % de cellules lysées.

B - <u>D'autres méthodes peuvent mettre en évidence des anticorps antilymphocytaires. Nous ne les avons pas utilisées.</u>

1) L'immunofluorescence indirecte utilisant soit des suspensions de lymphocytes vivants (MESSNER et coll., 1975) soit des lymphocytes fixés par l'acétone (HUSBY et MESSNER 1977)

peut détecter les ALTF (WINFIELD. 1975, THOMAS 1972)mais il est probable que d'autres anticorps non cytotoxiques sont mis en évidence par ces méthodes (HUSBY et MESSNER 1977).

2) L'inhibition de culture mixte lymphocytaire.
Cette technique détecte des anticorps non cytotoxiques de classe IgG qui ne sont donc pas des ALTF mais il est possible que les deux populations d'anticorps existent dans le même sérum.(WERNET et KUNKEL 1973a,REVILLARD et coll.1972)

3) La protéine A marquée à l'iode 125 a été utilisée pour détecter des anticorps antilymphocytaire dans le lupus érythémateux disséminé. Il s'agit pour la plupart d'anticorps de classe IgG se fixant à 37°C donc différents des ALTF (WILLIAMS et coll. 1977).

II - ETUDE DE LA CLASSE DES ALTF

Pour étudier la classe des anticorps qui portent l'activité cytotoxique des sérums positifs que nous avons étudiés nous avons utilisé le Dithiothreitol (DTT). Il s'agit d'un agent réducteur faisant disparaître l'action anticorps portée par les IgM (PIROFSKY et coll., 1974).

Le sérum est mélangé volume à volume avec le DTT 0,01 M puis incubé 15 mn à 37°C en microplaque de TERASAKI ; le test de cytotoxicité est ensuite poursuivi sans autre modification. Il n'est pas nécessaire de réaliser une dialyse avant d'ajouter la suspension cellulaire, le DTT n'étant pas cytotoxique pour les lymphocytes dans les conditions du test. En effet, l'incubation dans les conditions du test de lymphocytes avec le DTT ne modifie pas la viabilité des cellules.

Le test au DTT en raison de la dilution au 1/2 qu'il impose ne peut être réalisé que sur les sérums fortement positifs.

L'action du DTT sur une fraction IgG d'un sérum anti-HLA testé à 15°C et 37°C prouve qu'il n'a pas d'effet anti-complémentaire et qu'il n'inhibe pas l'action cytotoxique des IgG (Tableau VII).

Dilution en µl	2	1	1/2	1/4	1/8	1/16
Test à 37° C						
F* + sérum	++++	++++	++++	+++	—	—
F + DTT	++++	++++	++++	+++	—	—
n° 204 + sérum physiologique	—	—	—	—	—	—
n° 204 + DTT	—	—	—	—	—	—
Test à 15 ° C						
F + sérum	++++	++++	++++	+++	—	—
F + DTT	++++	++++	+++	+++	—	—
n° 204 + Sérum physiologique	++++	++++	++++	++++	—	—
n° 204 + DTT	—	—	—	—	—	—

TABLEAU VII : Action du DTT sur les ALTF et sur une fraction IgG d'un sérum anti HLA.

*F = fraction IgG d'un sérum anti HLA A01

n° 204 : sérum de gammapathie monoclonale contenant des anticorps antilymphocytaires froids.

Suspension utilisée HLA A01 A02-B08

III - ETUDE DE L'ACTIVITE AUTO-ANTICORPS

L'activité auto anticorps des ALTF ayant été mise en évidence par TERASAKI nous avons recherché une telle activité dans 45 sérums de transplantés rénaux provenant de 8 patients différents.

Nous avons utilisé la technique décrite précedemment pour détecter les ALTF et étudier leur classe en remplaçant les lymphocytes d'un pool de donneurs par les propres lymphocytes du sujet étudié.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DES ALTF DANS TROIS CIRCONSTANCES PATHOLOGIQUES

- GAMMAPATHIES MONOCLONALES
- CANCERS DU NASO-PHARYNX
- TRANSPLANTATIONS RENALES

I - ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES FROIDS DANS LES GAMMAPATHIES MONOCLONALES

Nous avons recherché la présence de ces anticorps lymphocytotoxiques dans 122 sérums de sujet ayant une gammapathie monoclonale. Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une recherche systématique d'activités anticorps spécifiques des protéines monoclonales.

A - Matériel

Les sérums testés proviennent du laboratoire central de Biochimie B de l'Hôpital Edouard Herriot de Lyon (Pr.CREYSSEL) Ils sont filtrés sur millipore 0,22 µ après centrifugation à 48 000 g puis conservés à -70 C.

Le caractère monoclonal de la gammapathie a été admis devant la restriction d'hétérogénéité physique et immunochimique d'une immunoglobuline du sérum (CREYSSEL et coll., 1974). 122 sérums ont ainsi été étudiés (65 hommes et 57 femmes). La plupart (109) proviennent de sujets de plus de 50 ans. 47 sérums de sujets cliniquement sains provenant de donneurs volontaires (CTS - Hôtel Dieu Lyon) ont été utilisés dans les mêmes conditions. Dans 22 cas la protéine monoclonale a été isolée du sérum par chromatographie sur colonne de Sephadex G 200 puis sur DEAE cellulose.

B - Méthode

Les tests de cytotoxicité ont été pratiqués selon le protocole exposé ci-dessus. Les tests positifs à 37°C comme à 15°C ont été considérés comme négatifs. Le test au DTT a été réalisé sur les sérums positifs.

C - Résultats

1) Fréquence des ALTF dans les gammapathies monoclonales

Une forte proportion (Tableau VIII) des sérums étudiés contient des ALTF et beaucoup peuvent être considérés comme forts. Parmi les 47 sujets contrôles, 7 sont positifs dans les mêmes conditions et 3 sont "forts". Cette proportion d'environ 10 % de sujet apparemment sains mais présentant des anticorps antilymphocytaires est celle retrouvée par la majorité des auteurs (KREISLER et coll., 1970, KUWERT et coll., 1972, NAITO et coll., 1971, SPENGLER et coll., 1972).

La population témoin ne tient pas compte de l'âge avancé de sujets présentant une gammapathie et OOI et coll. (1974a) ont trouvé plus de 40 % de positifs sur 20 sujets de plus de 60 ans. Ces résultats non confirmés par d'autres auteurs (MAYER 1975) ne se retrouvent pas dans le lot de nos sujets âgés (2 sérums positifs sur 15 provenant de sujets âgés de plus de 50 ans.

Après l'action du DTT l'activité lymphocytaire des 25 sérums ainsi testés disparaît. En outre 22 pics monoclonaux ont été purifiés par chromatographie (13 IgG, 7 IgM, 2 IgA). Tous sont dépourvus d'activité cytotoxique en présence du complément, sauf deux préparations d'IgM où cette activité, plus faible que dans le sérum total, disparaît rapidement en dilution. On peut donc admettre que la protéine monoclonale n'a pas d'activité anticorps lymphocytotoxique.

2) Fréquence des ALTF selon la classe de la gammapathie monoclonale

La présence d'anticorps lymphocytotoxiques est indépendante de la classe d'immunoglobuline cependant les gammapathies IgM ou micromoléculaires s'accompagnent un peu moins fréquemment d'anticorps lymphocytotoxiques dans notre série.(Tableau VIII)

Classe de la Gammapathie	Sérum "faible"		Sérum "fort"	
IgG	39/73	53 %	27/73	37 %
IgA	8/16	50 %	6/16	37 %
IgM	3/15	20 %	2/15	13 %
Bence Jones	0/12		0/12	
Autres	2/6		2/6	
Total	52/122	42 %	37/122	30 %
Sujets sains	8/47	15 %	3/47	6 %

TABLEAU VIII : Fréquence et distribution selon la classe de la protéine monoclonale des anticorps antilymphocytaires dans 122 sérums de sujets atteints de gammapathie.

3) Fréquence des ALTF en fonction du diagnostic clinique de la gammapathie monoclonale.

Si l'on classe les sérums "forts" en fonction du diagnostic clinique, on fait apparaître une différence significative ($p < 0,05$) entre le groupe des atteintes malignes du système immunitaire (58 myélomes, 11 maladies de Waldenström, 5 leucémies lymphoïdes chroniques) où la fréquence des anticorps lymphocytotoxiques est faible et le groupe des gammapathies monoclonales idiopathiques ou réactionnelles associées à des cancers de la prostate, cancers pulmonaires ou digestifs, infections chroniques des bronches et des voies biliaires où la fréquence des anticorps est plus grande (Tableau IX).

D - Conclusion

Des anticorps lymphocytotoxiques à 15°C en présence de complément de lapin sont présents dans près de la moitié des sérums de gammapathie monoclonale. Dans 30 % des cas cette activité est forte tuant plus de 80 % des cellules de la majorité des suspensions cellulaires.

Les anticorps ayant une activité cytotoxique comparable ont été décrits dans le sérum de 126 sujets sur 280 présentant une gammapathie monoclonale par SPENGLER et coll.(1972), par KREISLER (1974) (10 sujets sur 36) et par WATERS (1971). Une fréquence plus élevée a été de même démontrée dans les gammapathies oligo ou asymptomatiques par rapport aux myélomes à manifestations cliniques patentes.

Les différences observées dans le taux des anticorps lymphocytotoxiques forts entre les gammapathies monoclonales malignes et bénignes confirment que les perturbations du système immunitaire dans ces deux cas ne sont pas identiques (GASPAROTTO et coll., 1976).

Classe	Atteinte maligne du système immunitaire	Gammapathie idiopathique ou réactionnelle
IgG	10/41	14/27
IgA	1/11	4/4
IgM	2/12	0/1
PBJ	0/8	0/3
Autres	0/2	1/4
Total	13/74 17 % *	19/39 48 % *

TABLEAU IX : Fréquence des anticorps antilymphocytaires en fonction du diagnostic clinique de la gammapathie.

* $p < 0,05$

II - ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES FROIDS ET CANCER DU NASO-PHARYNX (NPC)

Nous avons recherché des ALTF chez les patients atteints de cancer du naso-pharynx (NPC) parce que cette tumeur est associée avec l'infection par le virus Epstein Barr (EBV). Ce virus est également l'agent causal de la mononucléose infectieuse dans laquelle les ALTF sont très fréquemment retrouvés à des taux très élevés.

Les patients proviennent de trois régions dans lesquelles l'épidémiologie du NPC est très différente. La Chine du Sud où sa fréquence est très élevée ; l'Afrique du Nord où elle est intermédiaire et l'Europe où sa fréquence est faible. Nous avons étudié dans le sérum de chaque cas de NPC et des contrôles provenant de chacune des trois régions le titre des ALTF et de certains anticorps anti EBV.

A - Matériel et méthode

- 90 sérums de NPC (43 en provenance de Hong Kong, 42 de Tunis et 13 de Paris) ont été sélectionnés de telle manière que les différents stades de la maladie soient répartis également dans les trois groupes (HO 1970). Les sérums de contrôle de chaque groupe sont constitués de patients cliniquement sains du même âge.

- Les tests de cytotoxicité ont été réalisés selon le protocole exposé. Les sérums ont été testés en dilution jusqu'au 1/16, ce qui a permis pour les sérums positifs de définir leur titre géométrique moyen (TGM).

- La sérologie virale : les anticorps contre l'antigène de la capside virale (VCA) et contre les antigènes précoces (EA) ont été titrés par une technique d'immunofluorescence indirecte (HENLE 1966). L'activité contre les antigènes nucléaires Epstein Barr (EBNA) a été déterminée par le test d'immunofluorescence à l'anticomplément de REEDMAN et KLEIN (1973).

- Le pourcentage d'individus ayant des ALTF a été comparé entre les différents groupes par le Test X^2. Le titre géométrique moyen des sérums positifs dans chaque groupe a été déterminé et comparé par le test de Student.

B - Résultats

1) Fréquence des ALTF dans les NPC

La fréquence des sérums contenant des ALTF aussi bien que le TGM des ALTF est plus élevé dans les NPC que dans les contrôles pour la population caucasienne (62% contre 17% et 1-7 contre 1-1 respectivement) et pour la population chinoise 84% contre 28% et 3-2 contre 1-2 respectivement. La fréquence des sérums positifs est identique (64%) chez les NPC provenant de Tunisie et le groupe contrôle cependant le titre géométrique moyen est plus haut dans les NPC que chez les contrôles (2-4 contre 1-3). Enfin si on compare le titre géométrique moyen des sérums de NPC positifs dans les différentes populations il est de 1-7 chez les caucasiens, de 2-4 chez les tunisiens et de 3-2 chez les chinois. La différence entre les caucasiens et les chinois est statistiquement significative ($p < 0,01$) (Tableau X).

2) Nature des anticorps cytotoxiques dans les NPC

L'activité cytotoxique des sérums de ces patients est portée par des anticorps ayant les propriétés des ALTF (dépendance vis à vis du complément et de la température, classe IgM).

3) ALTF dans les NPC suivant les stades de la maladie

Les critères pour déterminer les stades de la maladie sont différents pour les NPC de Hong Kong et les autres aussi les études comparatives entre les différents stades de la maladie ont été d'abord réalisées dans le groupe homogène des malades provenant de Hong Kong. La fréquence des sérums positifs est identique mais les TGM augmen-

Population	% ALTF positif *			Titre géométrique moyen (tse)		
	NPC	Contrôles	p	NPC	Contrôles	p
Chinoise	84(36/43)	28(8/29)	< 0,0005	3,2(1,17)	1,2(1,12)	< 0,01
Tunisienne	64(27/42)	64(9/14)	NS	2,4(1,17)	1,3(1,10)	< 0,01
Caucasienne	62(8/13)	17(10/60)	< 0,001	1,7(1,19)	1,1(1,09)	< 0,05

TABLEAU X : Pourcentage de sérums ayant des anticorps lymphocytotoxiques et titre géométrique moyen dans les sérums des patients ayant un NPC et des groupes contrôles provenant des mêmes zones géographiques.

NS : non significatif

* (nombre sérums positifs/nombre de sérums testés)

tent rapidement avec le stade de la tumeur (2 pour le stade I et II, 3 pour le stade III, 4,9 pour le stade IV). Ces deux dernières valeurs sont significativement plus élevées que le TGM des sérums de contrôles positifs (Tableau XI).

La comparaison entre les stades sans tenir compte de la région d'origine des patients est rendue délicate en raison des différentes classifications utilisées. Cependant, malgré cette hétérogénéité il existe une différence significative en pourcentage et en titre de ALTF entre les stades I,II et IV (Tableau XII).

4) Corrélation ALTF et anticorps anti EBV dans les NPC

La présence et le titre des anticorps anti VCA du virus d'Epstein Barr ont été recherchés dans tous les sérums de NPC. Il y a une corrélation positive entre le titre des ALTF et d'anticorps anti VCA dans la population chinoise et dans les sérums de Tunis. Dans 27 sérums de Tunis on a recherché en outre la présence d'anticorps anti EBNA. Une forte corrélation positive existe entre le titre de ces anticorps et les ALTF. Aucune corrélation n'a été trouvée entre les ALTF et les anticorps anti EA dans ce groupe de NPC de Tunis (Tableau XIII).

C - Conclusion :

Nos résultats montrent que l'incidence et le titre des anticorps antilymphocytaires froids sont plus élevés chez les patients ayant un cancer du naso-pharynx que dans les groupes contrôles excepté dans la population tunisienne où il existe une forte incidence des ALTF dans la population témoin. Cette grande fréquence des ALTF dans la population tunisienne a été confirmée par l'étude d'un groupe de 31 étudiants tunisiens cliniquement sains (17 sujets positifs sur 31 soit 55%) mais le titre des ALTF est faible comme dans le reste de la population tunisienne.

	% ALTF +	Δ (NPC-C)*	TGM (tse)	Δ (NPC-C)*
Contrôles	28 (8/29)		1,19	
Stade I + II	71 (10:14)	< 0,01	2	NS
Stade III	93 (13/14)	< 0,001	3,03	< 0,05
Stade IV	87 (13/15)	< 0,001	4,92	< 0,01

TABLEAU XI : Pourcentage de sérums ayant des ALTF et titre géométrique de ces sérums chez les patients ayant un NPC provenant de Hong Kong à différents stades de leur étude.

* Degré de signification (p) de la différence entre NPC et groupes contrôles

Stade	% ALTF	Δ (NPC-C)*	TMG	Δ (NPC-C)
Contrôle	28 (27/96)		1,28	
I + II	60 (12/20)	< 0,01	2,25	NS
III	73 (16/22)	< 0,0005	3,07	< 0,001
IV	81 (45/52)	< 0,0005	3,03	< 0,001

TABLEAU XII : Pourcentage de sérums ayant des ALTF et titre de ces anticorps chez les patients ayant un cancer du nasopharynx et les groupes contrôles toutes régions confondues.

NS : non significatif

* degré de signification (p) de la différence entre NPC et groupes contrôles

Population	Anti VCA r* p	anti EBNA r* p	anti EA r p
Chinoise	0,31 (43)$^{+}$ < 0,05	non fait	non fait
Tunisienne	0,33 (38) < 0,05	0,53 (27) < 0,01	0,08 (26) NS
Caucasienne	0,50 (13) NS	non fait	0,21 (13) NS

TABLEAU XIII : Association entre les titres de ALTF et les anti EBV (Anti VCA, Anti EBNA et anti EA)

* Coefficient de correlation avec ALTF

+ (nombre de cas de NPC)

NS:non significatif

La fréquence et le titre des ALTF dans les sérums de cancer du naso-pharynx varient avec l'origine des patients. Ils sont plus élevés dans la population chinoise, plus bas dans la population caucasienne, intermédiaires dans la population tunisienne. La différence dans le titre des ALTF est significative ($p < 0,01$) entre les populations chinoises et caucasiennes. Ces différences ne sont pas dues à une répartition inégale des formes évolutives des malades dans chaque groupe, ni à des variations de titre des ALTF dans les populations normales mais elles apparaissent liées à l'incidence des cancers du naso-pharynx dans ces populations.

Le titre des ALTF des patients ayant un NPC dans une population donnée et pour l'ensemble des populations mélangées croit avec le stade de la tumeur. L'effet d'éventuelles thérapeutiques ne peut être incriminé puisque les prélèvements ont été réalisés avant tout traitement. Bien que les ALTF aient été décrites dans une grande variété de situations pathologiques, il s'agit assez rarement de tumeurs. Quelques auteurs ont rapporté une augmentation modérée de la fréquence des ALTF dans le cancer du sein (MAYER et coll., 1975, LAMELIN et coll.(1977). Cependant dans ce dernier cas cette fréquence n'est pas différente de celle retrouvée dans une population du même sexe et du même âge. De plus dans le cancer du col de l'utérus dans la pathogénie duquel le virus Herpès simplex type II a été impliqué, la fréquence des ALTF est élevée mais elle apparaît plus élevée au stade de début de la maladie (Stade 0 et I) qu'au stade d'exclusion de la tumeur (II à IV) (MULLER et coll.,1977). Il semble donc qu'une tumeur ne puisse être, à elle seule, responsable de la survenue des ALTF et que dans le NPC, comme dans le cancer du col de l'utérus, les ALTF soient plus la conséquence ou la marque de l'infection virale associée.

Les agents infectieux les plus divers ont été mis en cause dans la survenue des ALTF. Seuls NAITO et coll. (1971)

ont décrit une corrélation entre des anticorps dirigés contre l'agent infectieux et les ALTF. Il s'agit en fait d'une association faible entre ALTF et anticorps antistreptolysines dans le rhumatisme articulaire aigu. La mise en évidence d'une corrélation positive entre les titres des anticorps anti VCA et les ALTF et chez les tunisiens (seul groupe étudié) entre les anticorps anti EBNA et ALTF peut être une preuve des liens qui existent entre infection virale et ALTF.

III - ANTICORPS LYMPHOCYTOTOXIQUES CHEZ LES RECEVEURS D'ALLOGREFFE RENALE.

Les patients recevant une allogreffe rénale subissent à la fois une stimulation immunologique importante due à l'incompatibilité relative du greffon et une immunodépression non spécifique par la thérapeutique nécessaire pour la tolérance de ce greffon. En outre cette immunodépression favorise les infections virales et parasitaires. Ces trois conditions : stimulation immunitaire, immunodépression, infections virales sont celles dans lesquelles des ALTF peuvent apparaître. Nous avons donc étudié la cinétique de ces anticorps avant et après transplantation en essayant de préciser leurs conditions d'apparition et l'influence qu'ils pourraient avoir sur la survie du greffon.

A - Matériel et méthodes :

Chez 18 transplantés successifs avec un rein de cadavre (9 hommes - 9 femmes) des sérums sont prélevés avant transplantation puis deux fois par semaine pendant le premier mois, une fois par mois ensuite. Tous les patients ont reçu un traitement immuno-suppresseur identique comportant azathioprine, corticoïdes et pendant un mois du sérum antilymphocytaire par voie intra-veineuse. La durée de surveillance est supérieure à 12 mois, sauf pour 4 patients transplantectomisés pour perte de la fonction du transplant avant cette date. 410 sérums ont été étudiés.

Les tests de lymphocytotoxicité ont été réalisés à 15°C, 22°C et 37°C. Le test au DTT a été réalisé sur tous les sérums positifs. Les résultats sont exprimés en pourcentage de suspensions positives. Nous avons admis l'existence d'un épisode d'activité cytotoxique chez un sujet donné lorsque nous avons trouvé une activité cytotoxique forte ou faible sur au moins deux sérums consécutifs.

Un certain nombre de sérums positifs ont été testés sur des populations enrichies en cellules T ou enrichies en cellules B par une technique de rosettes. Après formation de

rosettes E selon la méthode décrite page 6 , une centrifugation des lymphocytes remis en suspension dans une solution de Hanks est réalisée à 400 g sur gradient de Ficoll-Isopaque (Ficoll à 7,6% : 250 ml (Pharmacia Fine Chemical, Isopaque 350 : 50 ml (Winthrop), densité finale 1,078-1,080). Les populations enrichies en cellules T contiennent plus de 95% de cellules forment des rosettes E, les populations enrichies en cellules B contiennent environ 70 % de cellules ne formant pas de rosettes.

- Sur chaque sérum nous avons en outre pratiqué une sérologie virale portant sur 32 antigènes différents étudiés par déviation du complément : grippe (A,B,C), paragrippal sundai, oreillons, adénovirus, herpès, cytomégalovirus, ornithose, psittacose, rougeole, rubéole, mycoplasma pneumoniae, choriomeningite lymphocytaire, respiratoire syncitial, coksachie B (6 types), poliovirus (3 types), mononucléose infectieuse, hépatite à virus B, complétée dans quelques cas par l'isolement du virus dans les selles et/ou dans les urines.

- Un dosage systématique des immunoglobulines IgA, IgG, IgM des fractions du complément C_{1q}, C_4, C_3, C_3 PA par immunodiffusion radiale et du CH_{50} par méthode hémolytique a été pratiqué sur chaque sérum (Dr. M.GUIGUET, Laboratoire Pr.PADIEU). Une recherche de cryoglobulines et d'immuns complexes par la technique de précipitation du C_{1q} marqué à l'iode 125 a été réalisée chez quelques patients.

B - Résultats :

1) ALTF chez les sujets transplantés en dehors de la phase aigue des infections virales (Tableau XIV)

10 sujets (Groupe I) ont présenté des ALTF entre la deuxième et la cinquième semaine après transplantation. 9 ont une fonction rénale normale à 1 an, 1 présente un rejet chronique sévère. Ces anticorps ont une évolution particulière.

FONCTION RENALE	A	B	C
GROUPE I	9 F = 6 f = 3	1 F = 1 f = 0	0
GROUPE II	0	1 F = 1 f = 0	5* F = 1 f = 4
GROUPE III	2	0	0

Tableau XIV : ALTF et fonction rénale

A = Fonction rénale normale

B = Rejet chronique

C = Rejet irréversible

* : dont 2 avec une activité cytotoxique polyspecifique à 37 ° C

F : activité cytotoxique Forte

f : activité cytotoxique faible

Ils apparaissent le plus souvent à la fin du premier mois et ils persistent 2 ou 3 mois avant de disparaître progressivement (Fig. 1). 7 fois cette activité cytotoxique était forte, 3 fois elle était faible. Chez 3 de ces 10 patients il existait des ALTF avant transplantation. Ils ont disparu en quelques jours pour réapparaître ensuite. Ces trois patients avaient eu de nombreuses transfusions avant la greffe et deux présentaient des anticorps dirigés contre des spécificités connues du système HLA, lymphocytotoxiques à 37°C et de classe IgG. Chez un autre patient 2 sérums isolés ont été fortement positifs dans les premiers jours après transplantation ; l'activité cytotoxique a ensuite disparu pour réapparaître à la troisième semaine. En dehors des sérums de deux patients qui avaient des anticorps anti HLA avant la greffe et qui ont gardé contre les suspensions sensibles une activité cytotoxique portée par des IgG, les sérums positifs de ce groupe sont sensibles au DTT. Ces sérums sont cytotoxiques pour leurs propres lymphocytes (8 patients testés). La spécificité de ces ALTF a été étudiée à partir de 10 sérums choisis parmi les plus positifs ; ces sérums tuent environ 80 % des cellules des populations lymphocytaires sensibles. Toutes les suspensions de ces mêmes populations enrichies en cellules T sont sensibles et près de 100 % des cellules sont tuées alors que dans 4 cas sur 10 les populations enrichies en cellules B sont résistantes.

Il n'y a pas de corrélation entre la survenue de ces anticorps et le nombre d'incompatibilités HLA, le traitement immuno-dépresseur, les épisodes de rejets.

- 6 patients (Groupe II) ont présenté une activité cytotoxique à froid après la sixième semaine. Dans deux cas isolément, dans deux cas au cours d'une infection virale, dans deux cas associée à une activité cytotoxique à 37°C. Cette activité cytotoxique polyspécifique à 15°C comme 37°C est alors

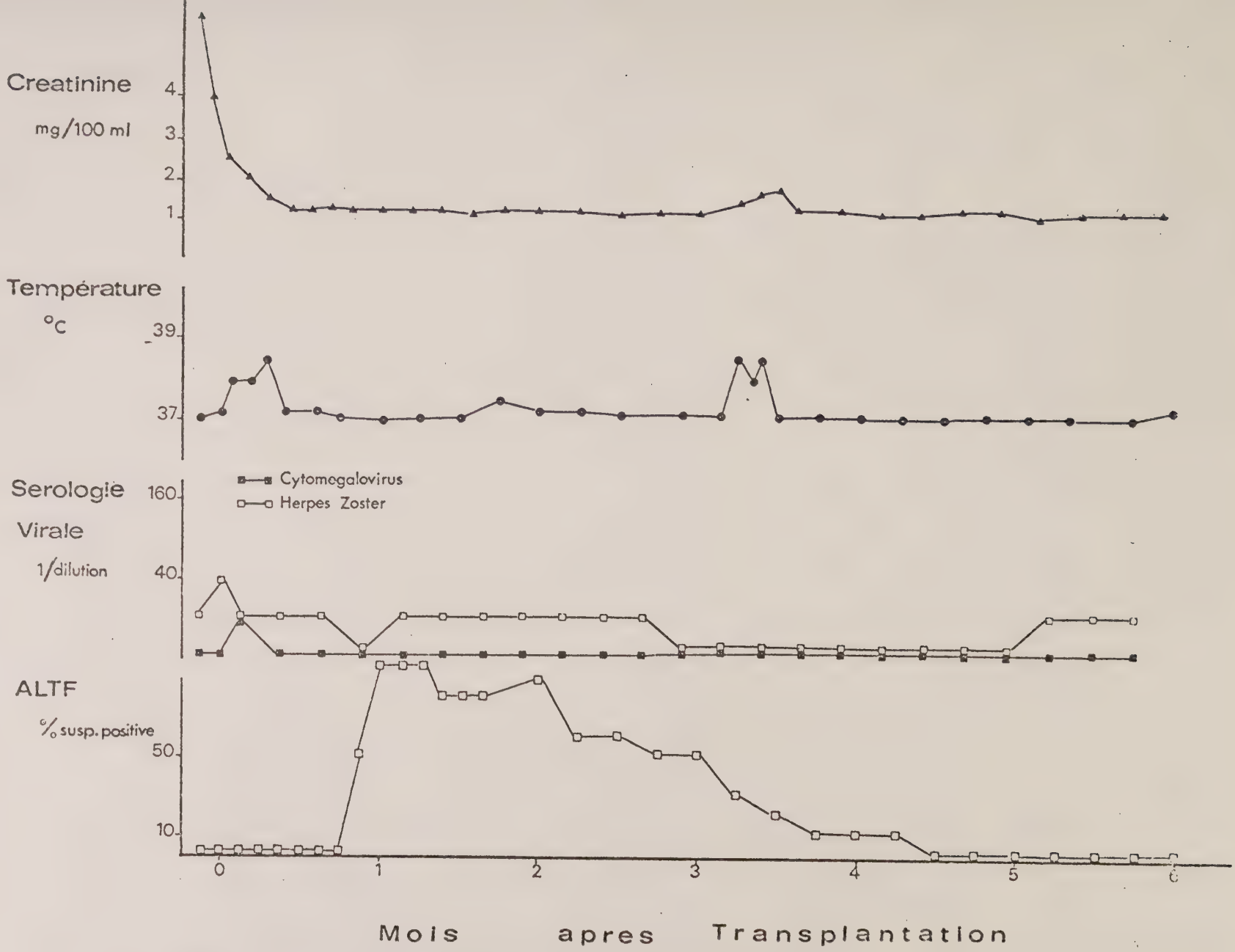

Fig. 1 : Evolution des ALTF chez un patient du groupe I

principalement portée par des IgG.5/6 ont présenté un rejet irréversible à 3,4,4,6 et 8 mois après la greffe et un présente un rejet chronique.

- 2 patients n'ont produit d'ALTF à aucun moment de l'évolution y compris au cours d'une infection virale ; les deux ont une fonction rénale normale.

2) ALTF chez les transplantés rénaux au cours des infections virales (Tableau XV)

15 infections virales (dont 8 à herpès virus) sur 18 diagnostiquées sérologiquement se sont accompagnées de la production d'ALTF (Fig.2). Dans 13 cas l'activité cytotoxique était forte, dans 3 cas elle était faible.

Ces ALTF peuvent survenir chez des patients du groupe I ayant eu des anticorps froids et chez des patients du groupe II qui n'en ont pas présenté spontanément après la greffe. Tous les sujets ayant fait des infections virales ont eu des ALTF sauf 2. Un a perdu son greffon, un a une fonction rénale normale.

Ces ALTF ne sont pas différentes dans les tests in vitro de ceux rencontrés en dehors des affections virales.

Au cours de la moitié de ces 18 infections virales il existe une crise de transplant qu'il y ait ou non des ALTF. Cependant aucun épisode accompagné d'une forte activité cytotoxique n'a été suivi d'un rejet irréversible alors que dans 3 cas où cette activité était faible ou nulle le greffon a été perdu à la suite d'une crise irréversible du transplant.

3) Caractère de la réponse suivant les sujets

a) 15 des 18 patients ont présenté au moins une infection virale. Dans 14 cas la réponse à l'infection virale était identique à celle due à la greffe c'est-à-dire 1 patient n'a répondu à aucun des deux stimuli, 5 patients ont répondu les deux fois par une activité ALTF faible, 8 ont répondu les deux fois par une activité ALTF forte. Un seul

Activité ALTF	FORTE		FAIBLE		NULLE	
	Nb patients	Evolution	Nb patients	Evolution	Nb patients	Evolution
Infection virale avec crise du transplant	6	A = 4 B = 2 C = 0	2	A = 0 B = 0 C = 2	1	A = 0 B = 0 C = 1
Infection virale sans crise du transplant	7		1		1	

TABLEAU XV : ALTF au cours des infections virales après transplantation

A = Fonction rénale normale après la crise

B = Fonction rénale diminuée

C = Perte du greffon après la crise

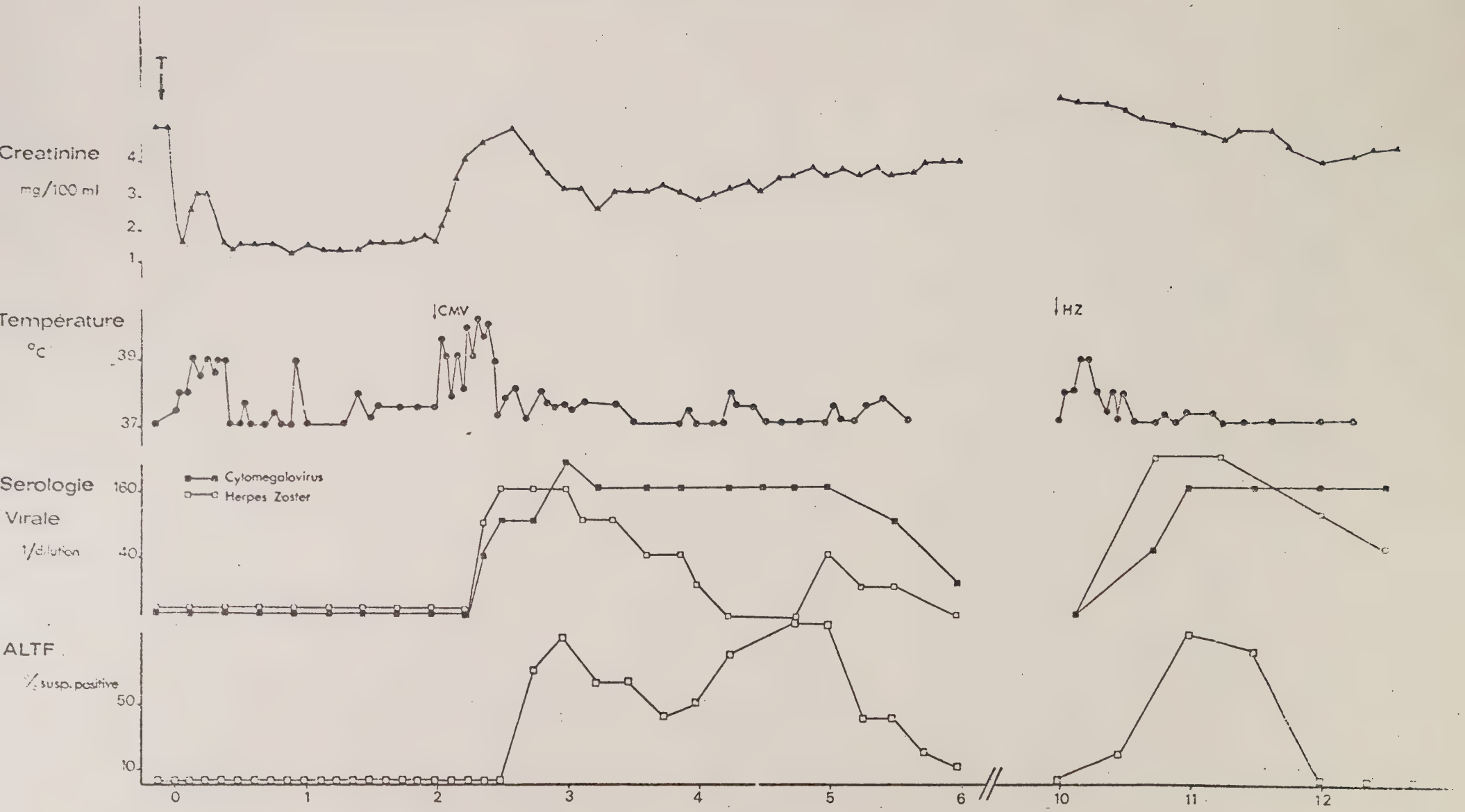

Fig. 2 : Evolution des ALTF chez un patient du groupe II

(patient a répondu fortement après une infection virale alors qu'il avait répondu faiblement à la greffe.

b) L'étude des taux sériques des immunoglobulines et des facteurs de complément chez les 8 patients "bons répondeurs" et les 7 patients "faibles" ou "non répondeurs" aux 2 types de stimulations montre que les bons répondeurs présentent un taux d'IgM significativement plus élevé que les mauvais répondeurs à partir du 2 ième mois. L'analyse de variance réalisée sur le taux d'IgM des trois premiers mois montre que les 2 populations sont différentes (Fig. 3)

Les taux d'IgG (Fig.4) IgA et des fractions du complément sont identiques dans les deux populations.

C - Conclusion

La présence de ALTF après transplantation rénale est connue (NAITO et coll.,1971) mais leur fréquence, leur signification et leur rôle restent discutés. PROU et coll.(1975) ne trouvent pas d'ALTF chez 13 transplantés. FERRONE et coll. (1977) trouvent des ALTF chez 5 transplantés sur 29. Les autres auteurs détectent des ALTF dans un pourcentage nettement plus élevé de sérums de transplantés (TING et coll., 1973, MITTAL et coll., 1975).KLOUDA et JEANNET (1976), ROY et coll. (1977) montrent une association positive entre la présence de ALTF et une bonne survie de greffon alors que pour TING et coll., (1973) MITTAL et coll.,(1975) cette association bien que non significative est négative. Des différences dans les dates de prélèvement, habituellement non signalées dans les publications, des sérums après transplantation et l'absence de prise en considération des infections virales peuvent expliquer ces divergences.

Nos propres observations suggèrent que :

1) Les ALTF sont très fréquents après transplantation. Ils sont produits soit en réponse à la stimulation immunitaire crée par la greffe soit au cours de la phase aigue d'une intion virale.

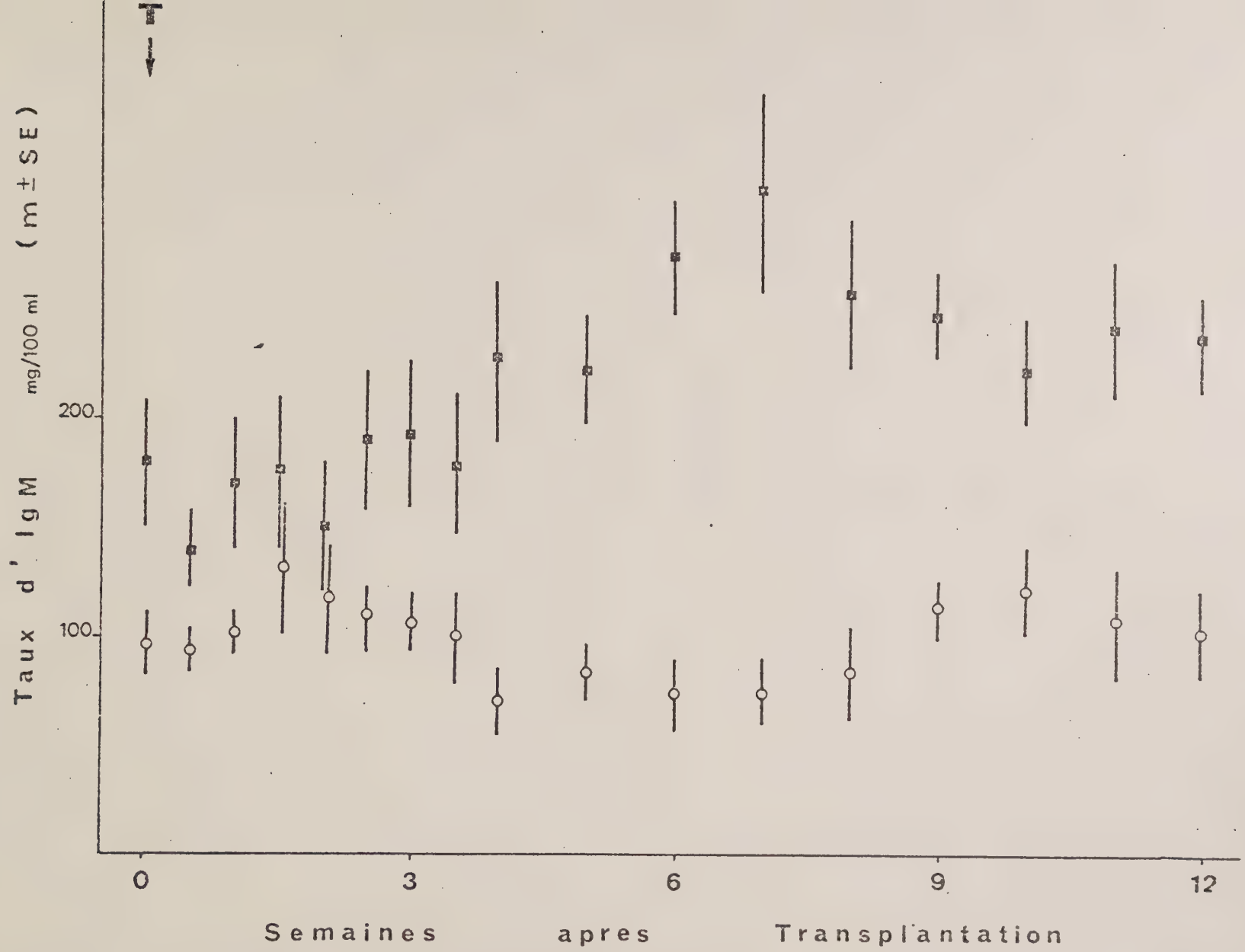

Fig. 3 : Evolution du taux des I_gM chez les bons répondeurs en ALTF ■
chez les mauvais répondeurs en ALTF o

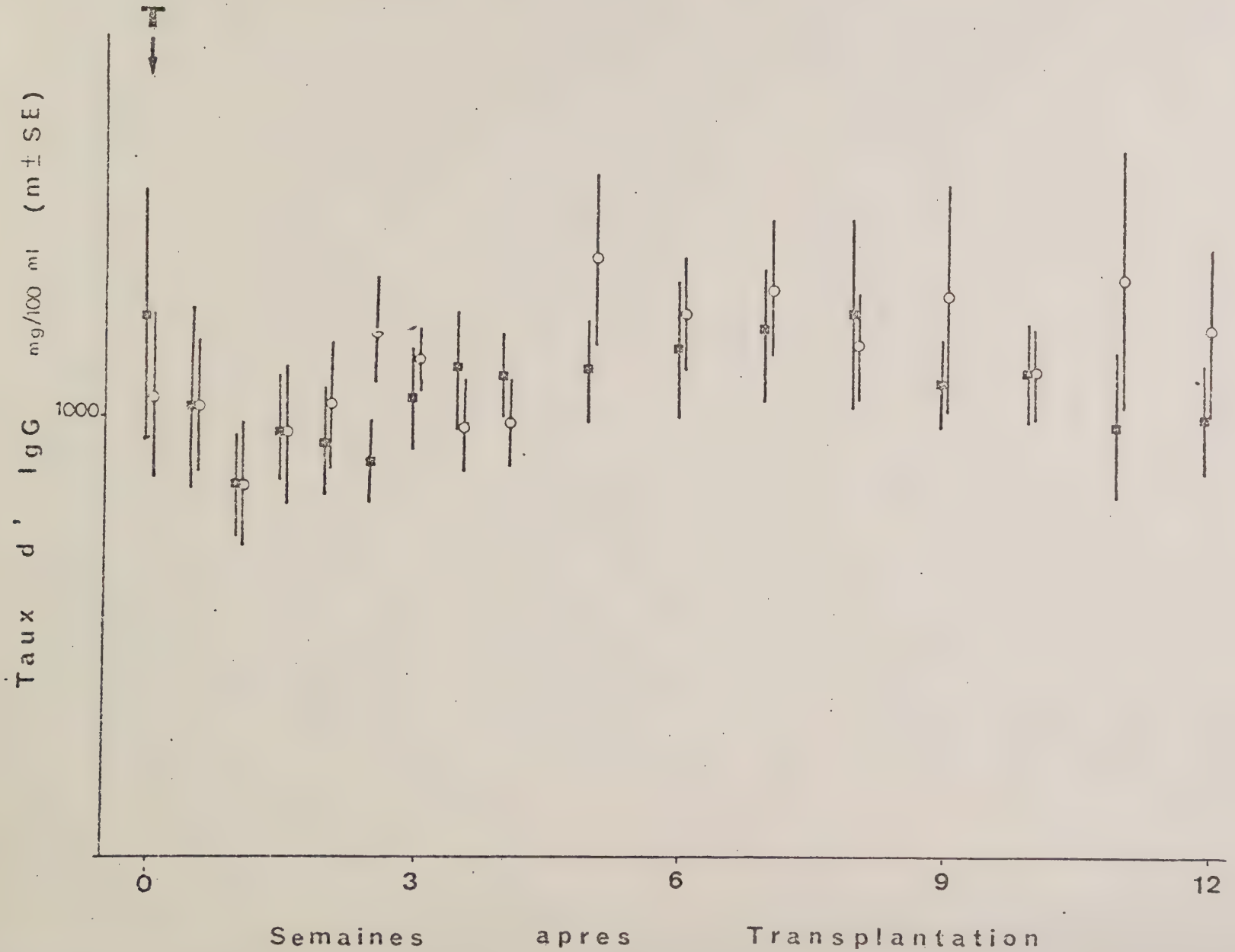

Fig. 4 : Evolution du taux des I_gG chez les bons répondeurs en ALTF ■

2) Les ALTF liés directement à la greffe, qu'il existe ou non une activité cytotoxique à 37°C, apparaissant avant la fin de la cinquième semaine sont associés avec une bonne survie du transplant ; ils persistent habituellement pendant un ou deux mois. Lorsqu'ils apparaissent tardivement, après la sixième semaine, et d'une manière passagère, la survie du greffon est, dans notre série, mauvaise. Cependant, l'absence totale de réponse ALTF peut être associée avec un bon pronostic de la greffe. La comparaison de la survie du greffon entre le groupe des patients ayant une réponse "précoce" et celui des patients qui répondent "tardivement" ou qui ne font pas d'ALTF est statistiquement significative ($p < 0,02$) ; il faut néanmoins interpréter ce résultat avec prudence compte tenu du faible effectif étudié. Ce calcul a été effectué en regroupant les répondeurs "tardifs" et les non répondeurs ; nous ne sommes pas certains que ce groupe soit homogène. S'il fallait isoler ce dernier sous groupe, la différence serait plus significative.

3) Une activité cytotoxique à 37°C peut être associée aux ALTF. Il peut s'agir :

D'anticorps existant avant la greffe qui persistent. Ils sont dirigés contre des antigènes de système HLA, leur spécificité sont connues et limitées. Ils n'affectent ni l'apparition des ALTF ni l'évolution du greffon.

D'anticorps cytotoxiques à 37°C polyspécifiques. Bien qu'il existe une activité cytotoxique à froid apparue en même temps, ces anticorps sont liés à la perte du greffon. Il est intéressant de noter qu'une telle activité cytotoxique n'est jamais apparue chez les patients qui ont fait des ALTF "précocement" (groupe I).

Aucun des patients étudiés n'a présenté après la greffe d'anticorps dirigés contre les spécificités HLA du greffon.

4) La survenue d'ALTF au cours d'une infection virale ne modifie pas le pronostic de survie du greffon cependant des ALTF forts pourraient avoir un rôle protecteur ou régulateur lors des crises du transplant associées à un épisode viral. L'absence de différence apparente entre les ALTF associés à une infection virale et ceux dus à la transplantation rend ce rôle à la fois possible mais difficile à prouver.

Les ALTF apparaissent donc dans certains cas comme une réponse humorale à la transplantation comme les anticorps HLA. Cependant cette réponse présente des caractères particuliers. Elle ne dépend pas de la compatibilité HLA, elle est tardive par rapport à la stimulation et elle est prolongée d'autant plus qu'il s'agit d'une réponse à IgM.

Après vaccination la réponse en ALTF apparaîtra également tardivement, environ un mois après l'immunisation (KREISLER et coll., 1970, MAYER et coll., 1975). Une réponse anticorps de ce type est retrouvée chez des rats recevant un greffon rénal après pré-immunisation par des cellules de moelle du donneur. Cette réponse de classe IgM survenant tardivement aux environs du trentième jour et se prolongeant 100 à 120 jours est associée avec une bonne survie du greffon (DESAI et coll., 1977). La spécificité de ces anticorps n'est pas clairement précisée mais elle semble différente des anticorps dirigés contre les antigènes d'histocompatibilité du rat (AgB) des sérums hyper-immuns ; il n'est pas certain qu'elle soit exactement superposable à celle des ALTF. Si chez l'homme ce type de réponse secondaire pouvait être assimilée aux ALTF il faudrait admettre que la présensibilisation a été réalisée, au hasard par des transfusions, une grossesse ou une greffe antérieure. Cette hypothèse est compatible avec la présence d'ALTF chez trois transplantés SALVATIERA et coll. (1977) polytransfusés et ayant une bonne survie de leur greffon.

La mise en évidence de deux populations l'une bonne répondeuse, l'autre mauvaise répondeuse suggère que, en dehors du rôle de la stimulation immunitaire due à la greffe ou aux virus la capacité de développer des ALTF puisse représenter une susceptibilité particulière génétiquement déterminée.

L'élévation du taux des IgM chez les patients présentant une forte réponse en ALTF pourrait être due à la fréquence un peu plus élevée d'infection virale dans ce groupe (10 chez 8 patients bons répondeurs contre 7 chez 7 patients mauvais répondeurs : cette différence n'est pas significative) en effet une élévation du taux des IgM, accompagnant le plus souvent une immunodépression est connue dans certaines maladies parasitaires et virales comme la mononucléose infectieuse (WOLLHEIM et coll., 1966), les infections à cytomégalovirus (NORDBRING et coll., 1971). Cependant dans des circonstances identiques ; mononucléose infectieuse (MOTTIRONI et TERASAKI, 1970), hépatite (BERTRAMS et coll., 1976) cette élévation du taux des IgM est corrélée avec la présence d'ALTF. Il est donc possible que l'élévation du taux des IgM dans la greffe et certaines maladies virales et peut-être l'immunodépression qui l'accompagne soit la conséquence de l'action des ALTF sur les lymphocytes T en particulier sur la sous population nécessaire au switch IgM-IgG. On ne peut, cependant, éliminer l'hypothèse que en cas d'infection virale, les ALTF comme les autres anticorps IgM soit un produit non spécifique des lymphocytes B infectés (ROSEN A. et coll. 1977) ce qui expliquerait leur montée parallèle.

La stimulation immunitaire créée par la greffe fait apparaître des ALTF qui semblent jouer un rôle régulateur sur les phénomènes de rejet.

La mise en évidence par SCHACTER et coll., (1976) chez des patients polytransfusés d'anticorps différents des anti-

corps anti HLA ayant la plupart des propriétés des ALTF peut suggérer que l'effet bénéfique des transfusions avant transplantation pourrait dans certains cas être associé à la présence d'ALTF ou à leur apparition après la greffe du fait de cette pré-immunisation.

D'autre part, la réalisation d'un bilan viral complet après transplantation en parallèle avec la recherche des ALTF permettrait peut-être d'expliquer certaines modifications de la tolérance du greffon au cours des infections virales.

IV - CARACTERISTIQUES DES ALTF

A- Classe

Après traitement par le DTT les sérums de gammapathies monoclonales (25), les sérums de NPC (52) et 4 sérums de sujets sains qui ont pu être étudiés perdent leur activité cytotoxique à 15°C. Cette activité est donc portée par des anticorps de classe IgM.

L'activité cytotoxique à 15°C des sérums provenant des sujets ayant reçu une allogreffe rénale disparaît le plus souvent après action du DTT (Tableau XVIa) même lorsque celle-ci s'accompagne d'une activité cytotoxique à 37°C (Tableau XVIc). Cette activité cytotoxique à 37°C correspond à des anticorps dirigés contre les antigènes du système HLA, elle peut être isolée (Tableau XVIe). Dans certains sérums il existe une activité cytotoxique à 15°C et 37°C qui ne disparaît pas après action de DTT (Tableau XVId). Cette activité n'a pas de spécificité HLA, n'est pas de classe Ig^M et ne correspond donc pas à la définition des ALTF. Il existe enfin des anticorps cytotoxiques électivement à 15°C qui résistent à l'action de DTT (Tableau XVIb) ; ces anticorps pourraient être soit des anticorps anti-HLA dont l'optimum thermique serait bas (MAYER et coll., 1974a) soit des ALTF sous forme IgM 7S (MAYER et coll.,1976).

B - Spécificité

1) Activité auto-anticorps

Cette activité n'a pu être recherchée que chez 8 transplantés rénaux. Cette activité cytotoxique a été retrouvée dans les 45 sérums testés. Elle est présente dans les sérums positifs prélevés lors des infections virales et en dehors des infections virales.

Chez 6 patients cette activité auto anticorps apparaît moins forte que l'activité cytotoxique contre la plupart des

Test sans DTT	Test avec DTT				
serum / origine / Nombre	Total	Groupe I		Groupe II	
		Virus −	+	Virus −	+
42 F^+/C^- a →	39 F^-C^-	15	17	4	3
b →	3 F^+C^-	2	1	0	0
24 F^+/C^+ c →	7 F^-C^+	6	0	1	0
d →	17 F^+C^+	0	0	17	0
4 F^-/C^+ e →	4 F^-C^+	4	0	0	0

TABLEAU XVI : Action du DDT sur les sérums positifs suivant le caractère de la cytotoxicité (classique ou à froid) et l'origine des sérums

F^+/F^- : Présence/absence d'anticorps lymphocytotoxiques à 15

C^+/C^- : Présence/absence d'anticorps lymphocytotoxiques à 37

Virus + : Sérum prélevé au cours d'une infection virale

Virus − : Sérum prélevé en dehors de toute infection virale

suspensions allogéniques. Plusieurs auteurs ont également rapporté une moindre sensibilité des lymphocytes autologues (KNAPP et coll., 1972, SPENGLER et coll., 1972). Ces constatations peuvent être rapprochées de celles de KORSMEYER et coll. (1974) qui ont montré que les lymphocytes des patients atteints d'une maladie inflammatoire du côlon et ayant des ALTF dans leur sérum étaient moins sensibles que les lymphocytes de sujets sains. Par contre, les lymphocytes de patients ayant un lupus érythémateux disséminé sont des cibles plus sensibles pour les ALTF (DE HORATIUS et MESSNER 1975) comme s'ils étaient déjà auto-immunisés (STASNY et ZIFF 1971a).

2) Spécificité vis à vis des lymphocytes et des sous populations lymphocytaires

a) Expériences d'absorption élution

Elles ont été réalisées avec des sérums de gammapathies monoclonales fortement positifs.

L'absorption des ALTF est nulle à 37°C. Elle ne peut être réalisée qu'à 4°C ceci est sans doute la conséquence de la faible affinité de ces anticorps. Cependant, le fait que la détection d'anticorps antilymphocytes dans le sérum de lupus érythémateux disséminé par immunofluorescence indirecte quand elle est réalisée sur des cellules fixées soit indépendante de la température peut aussi signifier que le ralentissement du métabolisme cellulaire joue un rôle dans l'activité de ces anticorps (HUSBY et MESSNER 1977).

Nous avons réalisé des absorptions sur plaquettes, polynucléaires et lymphocytes. Les suspensions cellulaires étaient préparées soit à partir d'un grand nombre de donneurs permettant de représenter la plupart des spécificités HLA soit à partir d'un même individu (CTS Lyon-Beynost: Dr.BETUEL) permettant ainsi de comparer la capacité d'absorption à 4°C des différentes cellules. La durée du contact entre cellules et sérum à été variable (1 à 12 h.), la poursuite après 4 h. n'apporte pas de modification. La suspension est agitée dou-

cement pendant toute l'absorption. Après l'absorption, une centrifugation rapide à 2000 g pour les plaquettes, 1000 g pour les autres cellules permet de séparer les cellules de l'absorbat qui constitue le surnageant.

Dans ces conditions les quantités de cellules nécessaires sont nettement supérieures à celles qui permettent d'absorber les anticorps anti HLA. En outre contrairement à ce que l'on observe avec les anticorps anti HLA après absorption sur les lymphocytes d'un individu, le titre lymphocytotoxique est abaissé sur l'ensemble des suspensions éprouvées et non pas seulement sur celle qui a servi à l'absorption. Les pools de plaquettes ou de polynucléaires ne permettent pas une absorption complète (Tableau XVII). L'absorption est plus importante sur les lymphocytes que sur les plaquettes ou les polynucléaires. Cependant certaines suspensions lymphocytaires ne permettent aucune absorption et il semble même que sur les autres il soit difficile d'épuiser complètement l'action cytotoxique d'un sérum même par absorptions successives. Des lymphoblastes de lignée continue de type B (L 091) se sont révélés totalement incapables de fixer les anticorps lymphocytotoxiques. Après absorption, on peut obtenir des éluats riches en anticorps par simple élévation de température (Tableau XVIII). Cependant le simple lavage, même réalisé à 4°C des lymphocytes ayant servi à l'absorption fait disparaître les anticorps fixés sur leur membrane.

b) Effets cytotoxiques contre des sous populations cellulaires.

Nous avons cherché à mettre en évidence une sensibilité différente entre les sous populations ne formant pas de rosette E et celles en formant isolées à partir de sang périphérique ou d'amygdales. Les sous populations ainsi obtenues sont fragilisées et bien que, lors des tests de lymphocytotoxicité, nous ayons réduit les temps d'incubation en présence de complément (1h30 à 15°C) le pourcentage de cellules lysées spontanément est élevé (20 à 40%) rendant délicate

50 µl sérum n° 219 absorbé sur \ Dilution en µl	µl			
	1	1/2	1/4	1/8
0	++++	++++	+++	+
10^9 plaquettes	+++	+++	+	—
15 X 10^6 polynucléaires	+++	++	+	—
10 X 10^6 lymphocytes	+	(+)	—	—

TABLEAU XVII : Absorption d'anticorps antilymphocytaires froids sur différentes populations cellulaires d'un même individu.

Dilution en µl	Sérum n° 204				Eluats	
	1	1/2	1/4	1/8	2	1
Sans absorption	++++	+++	+	(+)		
Absorption à 15° C susp. A01 A02-B08						
1 fois	++	+	—	—	++	+
2 fois	+	+	—	—	+	+
suspension A0 A03 B07	+++	+++	+	+	—	—
Absorption à 37° C suspension A01 A02 B08	+++	++	+	+	+	—

TABLEAU XVIII : Expériences d'absorption d'anticorps lymphocytaires froids sur différentes suspensions lymphocytaires et à différentes températures.

l'interprétation des résultats. Nous n'avons pas constaté de différence en utilisant les sérums de gammapathies monoclonales. Cependant sur 10 sérums forts provenant de transplantés rénaux 4 ne sont pas cytotoxiques sur la population ne formant pas de rosette.

3) Comparaison avec les anticorps anti-HLA

Les anticorps lymphocytotoxiques apparaissent différents des anticorps anti HLA-immuns par leur classe IgM et par leur optimum thermique. Cependant MAYER et coll., (1974a) ont montré que les anticorps HLA peuvent être révélés également à 15°C en prolongeant l'incubation. C'est pourquoi nous avons testé chaque sérum en parallèle à 15°C et à 37°C. Nous avons constaté d'importantes différences de sensibilité à la lyse en présence d'anticorps antilymphocytaires selon l'origine de la suspension de lymphocytes ; ces différences sont indépendantes du phénotype HLA des lymphocytes utilisés . La différence entre anticorps anti-HLA et anticorps lymphocytotoxiques apparaît encore plus clairement lorsque les deux types d'anticorps sont présents dans le même sérum. L'expérience présentée sur le tableau XIX montre que ces deux types d'anticorps peuvent être dissociés : les anti HLA peuvent être absorbés à 37°C sur les lymphocytes portant les antigènes de la spécificité correspondante et ne sont pas détruits par l'action du DTT, contrairement aux anticorps lymphocytotoxiques révélés seulement à 15°C.

C -Effets biologiques in vitro

Les ALTF sont définis en partie par leur pouvoir cytotoxique in vitro en présence de complément. Nous avons essayé de démontrer que ces anticorps pouvaient avoir d'autres effets biologiques in vitro. Quelques résultats partiels peuvent être rapportés.

	Suspensions lymphocytaires	
	HLA A01 A10-B05	HLA A02 W32-B08
Sérum anti HLA A01		
37° C	++++	-
15° C	++++	++++
Sérum anti HLA A01 absorbé sur lymphocytes HLA A01		
37° C	-	-
15° C	+++	+++
Sérum anti HLA A01 traité par DTT		
37° C	+++	-
15° C	+++	-

TABLEAU XIX : Mise en évidence des anticorps anti HLA A 01 et des anticorps lymphocytotoxiques dans un même sérum : effets de l'absorption à 37° C sur les lymphocytes HLA A 01 et du traitement par le DTT.

1) Nous avons mis en évidence une inhibition de la formation des rosettes E par des sérums contenant des ALTF. Cette inhibition est faible ; elle est de l'ordre de 25 % à la dilution de 1/2 et nulle au 1/10 par rapport à un sérum normal (Tableau XX). Elle n'apparaît que lorsque le test des rosettes est réalisé avec quelques modifications par rapport à la méthode décrite par FANG (1974).

Un volume de lymphocytes à 4 x 10^6 cellules par ml dans du RPMI est incubé 1 h à 15°C avec un volume de sérum pur ou en dilution. Ce sérum a été auparavant absorbé sur globules rouges de mouton. Au mélange est ajouté un volume égal d'érythrocytes de mouton à 2 x 10^8 cellules par ml dans du milieu RPMI. Après une incubation de 30 mn à 15°C on centrifuge 5 mn à 200 g et à 4°C. Les lymphocytes fixant 2 ou plus de 2 globules rouges sont comptés comme rosettes.

Cette inhibition de la formation des rosettes n'est pas retrouvée par MESSNER et coll.(1975) avec des sérums de lupus érythémateux disséminé contenant des anticorps lymphocytotoxiques. Cependant la formation de rosettes avec des lymphocytes provenant de patients ayant des anticorps lymphocytotoxiques est fortement diminuée mais seulement dans le cas où les lymphocytes ne sont pas préincubés avant le test et où l'incubation est courte (WINCHESTER et coll.,1974). Ces résultats confirment que les antigènes reconnus par ces anticorps sont présents sur les lymphocytes T. Cependant cet antigène est différent du phénotype HTLA, en effet un sérum anti HTLA inhibe à 100 % les rosettes E (WORTISH 1973).

2) Nous avons étudié l'action de fractions 19S de sérum de gammapathies monoclonales non cytotoxiques à 37°C sur des cultures de lymphocytes. Celles-ci sont réalisées par stimulation de lymphocytes de donneurs normaux par phytohémagglutinine (DIFCO 50 g/ml), Concanavaline A (NBC 50 g/ml)et lymphocytes allogéniques selon la méthode décrite par BROCHIER (1971) en présence de fractions de sérums de gam-

Sérum Dilutions finales $\frac{1}{2}$	Pourcentage de cellules formant des rosettes	Cytotoxicité à 15° C
n° 4	59	+++
n° 16	57	++
n° 38	77	—
SVF	75	—

TABLEAU XX : Inhibition de la formation des rosettes E par les sérums contenant des anticorps lymphocytotoxiques.
Les résultats sont donnés en pourcentage de cellules formant des rosettes E.

SVF : sérum de veau foetal

mapathies. Nos résultats présentés dans le Tableau XXIa indiquent la présence d'un effet inhibiteur associé à celle d'anticorps antilymphocytaires dans la fraction 19S du sérum. L'association de ces deux activités est retrouvée chez un patient ayant eu successivement deux greffes de moelle HLA identique provenant d'un même donneur (Tableau XXIb).

SPENGLER et coll.(1972) ont également montré que des sérums de gammapathie contiennent des anticorps lymphocytotoxiques produisant une inhibition plus ou moins spécifique de la transformation lymphoblastique par mitogène. Dans les sérums de lupus érythémateux disséminé HORWITZ et coll.(1975) mettent en évidence un effet suppressif de la réactivité aux mitogènes mais cette activité n'apparaît pas corrélée à l'activité cytotoxique et elle est retrouvée dans la fraction IgG. Des anticorps bloquant la culture mixte de lymphocytes ont été trouvés dans les mêmes conditions que celles où existent des anticorps froids, lupus érythémateux disséminé (WERNET 1973a), grossesse et transplantation (REVILLARD et coll., 1973). Ces anticorps n'ont pas de spécificité HLA et sont absorbés uniquement sur lymphocytes et auraient dans certaines conditions une spécificité T lymphocyte (WERNET et KUNKEL 1973b); ils diffèrent cependant des anticorps lymphocytotoxiques froids par leur classe et aucune corrélation entre leur présence et celle des ALTF n'a été recherchée.

a)

Fraction 19 S	P H A	Con A	P W M	M L C	Lymphocytotoxicité 15° C	Lymphocytotoxicité 37° C
n° 4	8	55	55	80	+++	-
n° 58	20	75	20	75	+++	-
n° 38	5	0	0	30	-	-

b)

Greffe	P H A	M L C	Lymphocytotoxicité 15° C	Lymphocytotoxicité 37° C
------→ J0	0	0	-	-
J 10	40	90	(+)	-
J 30	0	10	-	-
J 40	12	25	-	-
J 60	0	10	-	-
------→ J 90	70	78	+	-
J 100	50	90	+	-

TABLEAU XXI : Inhibition de stimulation des cultures de lymphocytes par des sérums ou des fractions 19S de sérums contenant des anticorps lymphocytiques. Les résultats sont donnés en % d'inhibition par rapport à un témoin normal.

a) Etude de fractions 19S de sérum de gammapathie monoclonale provenant d'individus différents.

b) Etude de sérums provenant d'un même malade à des dates différentes après une greffe de moelle osseuse HLA identique.

TROISIEME PARTIE

DISCUSSION

I - CIRCONSTANCES DE SURVENUE DES ALTF

Les situations cliniques dans lesquelles des anticorps antilymphocytaires ayant toute ou partie des propriétés des ALTF ont été mis en évidence correspondent à une stimulation importante du système immunitaire et/ou s'accompagnent d'une perturbation, le plus souvent une importante dépression, de l'état immunitaire du patient.

C'est le cas des infections virales et parasitaires (Tableau XXII) dans lesquelles ces anticorps antilymphocytaires sont retrouvés à la phase aigue souvent à un taux très élevé et persistent lors de la convalescence à un taux plus bas (MOTTIRONI et TERASAKI 1970). Les rechutes ou récidives, la diffusion ou la localisation à certains organes s'accompagnent de l'augmentation du taux de ces anticorps (NAITO et coll., 1971, MAYER et coll., 1974, BERTRAMS et coll., 1976).

L'incidence des ALTF est également forte après les stimulations allogéniques (Tableau XXIII) et dans les maladies où existent des phénomènes auto-immuns (Tableau XXIV).

La présence d'ALTF a été décrite dans un certain nombre d'autres circonstances pathologiques (Tableau XXV) et même physiologiques puisque ils sont retrouvés chez 1 à 10 % des sujets cliniquement sains suivant les auteurs. Ce pourcentage serait beaucoup plus élevé chez les personnes âgées : (40% chez 20 sujets de plus de 50 ans (OOI et coll., 1974c), 27% chez 47 sujets de plus de 60 ans (DIAZ-JOUANEN et coll., 1975) et dans certaines populations (28% dans la population chinoise, environ 50 % dans la population tunisienne (populations contrôles des cancers du nasopharynx). Le titre des ALTF dans ces populations est en général faible. La survenue d'ALTF chez des sujets cliniquement sains peut être la marque d'une maladie sans manifestation clinique (infections virales, gammapathie monoclonale) ou de la présence dans l'entourage du sujet testé ou dans sa famille d'un malade présentant des ALTF : maladie de Hodgkin (MENDIUS et coll., 1976), lu-

	MOTTIRONI (1970)	KREISLER (1970-71)	NAITO (1971)	MAYER (1973-75)	SUTTON (1974)	BERTRAMS (1976)
Mononucléose infectieuse	76(100)*			75(7)	47(70)	
Rubéole	90(51)*			30(25)		
Rougeole	78(64)*					
Grippe Influenza A1 A2 B				85(20) 61(18) 68(19)		
Herpes				28(25)		
Oreillons				100(9)		
Rickettsioses				38(8)		
Hépatites sans récidive - avec récidive		50(4)		0(4)		30(46) 46(31)
Cirrhose post hépatique						40(15)
Donneur de sang Au+						20(20)
Pneumonie à mycoplasmiae		60(5)		100(9)		
Toxoplasmose				34(34)		
Candida albicans				40(5)		
Parasitose intestinale - sans migration - avec migration				16(12) 90(10)		
Tuberculose		40(22)				
Syphilis			55(16)		55(16)	
RAA avec atteinte cardiaque					28(60)	
Vaccination DTTAB				18(9)		
- BCG				10(10)		
- antivirale		31(113)		0(3)		

TABLEAU XXII : Anticorps antilymphocytaires dans les maladies virales, parasitaires et infectieuses. Les résultats sont exprimés en pourcentage. Entre parenthèses le nombre de sujets testés.
* Les sérums positifs à 37° C ne sont pas exclus de ce pourcentage.

	NAITO (1971)	MITTAL (1973)	PROU (1975)	SCHACTER (1976)	CHALOPIN (1976-77)	CLUCKMAN (1977)	ROY (1977)	FERRONE (1977)
Grossesse ante partum	30(185)							
post partum	24(38)							
Greffe de rein	60(35)	52(81)	0(13)		88(18)		56(39)	17(29)
Greffe de moelle					66(3)*	40(18)		
Transfusions répétées				100(2)?				

TABLEAU XXIII : Anticorps antilymphocytaires froids après stimulation allogenique. Les résultats sont exprimés en pourcentage. Entre parenthèses le nombre de sujets testés.

* Résultats non publiés.

	TERASAKI (1970)	MITTAL (1970)	STASNY (1971a)	NAITO (1971)	KREISLER (1971)	COLBERG (1972)	KNAPP (1972)	NIES (1974)	BERTRAMS KIVERT (1972-1976)	PROU (1975)	MAYER (1975)	GENTH (1976)	RAUM (1977)	NOGUERA (1977)
Lupus erythemateux disseminé	80*(64)	74(58)	60(60)	42(73)				36(124)					60(45)	
Lupus induit												80(7)		
PCR Serum	55*(53)	14(28)		30(36)						0(7)				32(26)
Liquide synovial														14(22)
Polyarthrite chronique juvénile													6(75)	40(5)
Sclérodermie	50*(11)													
Polymyosite	16(6)													
Vasculite necrosante													40(31)	
Xyasthénie					50(4)		50(28)			0(15)				
Hashimoto				50(8)										
Maladie de Basedow				61(26)										
Anémie de Biermer				35(34)		40(60)								
Anémie hemolytique autoimmune										75(17)				
Hepatite chronique									14(51)					
Hepatite chronique active									48(77)					
Sclerose en plaque				18(72)					34(462)		30(20)			

*Les sérums positifs à 37° C ne sont pas exclus de ce pourcentage

TABLEAU XXIV : Anticorps antilymphocytaires dans les maladies "auto-immunes". Les résultats sont exprimés en pourcentage. Entre parenthèses, le nombre de sujets testés.
(N.B. Certaines maladies rangées dans ce cadre sont aux frontières de l'immunopathologie.)

	GRIFON (1970)	NAITO (1971)	KREISLER (1971)	SPENGLER (1972)	OOI (1974)	PROU (1975)	CHALOPIN (1975 b)	MAYER (1975)	VENDIUS (1976)	STRICKLAND (1976)	LAMELIN (1977)	MELLER (1977)
Maladie de Hodgkin	60(13)		37(8)		0(6)	8(17)			60(10)			
Gammapathie monoclonale			28(36)	45(280)			42(122)					
Nephrose lipoidique					60(8)							
Glomérulonephrite proliférative diffuse					50(10)		50(23)*					
Glomérulonephrites chroniques"		24(14)										
Glomérulonephrites mesango prolifératives							55(18)*					
Maladie de Berger							25(8)*					
Cancer du rein								17(29)			23(75)	
Cancer de l'utérus												22(120)
Cancer du nasopharynx											71(98)	
Déficit immunitaire						21(32)						
Maladie inflammatoire des colons (RCHU, Crohn)										40(50)		

*Résultats non publiés

TABLEAU XXV : Autres circonstances dans lesquelles des anticorps antilymphocytaires froids ont été mis en évidence. Les résultats sont exprimés en pourcentage. Entre parenthèses, le nombre de sujets testés.

pus érythémateux (DE HORATIUS et coll., 1975) rectocolite hémorragique ou maladie de Crohn (KORSMEYER et coll., 1975).

La survenue des ALTF dans des circonstances pathologiques aussi variées peut suggérer qu'ils sont présents ou produits comme un phénomène naturel survenant lors de la réponse immune à divers stimuli. De cette revue de la littérature il ressort cependant que deux types de stimulation produisent le plus fréquemment des ALTF : les infections virales et les stimulations allogéniques.

A - Rôle des virus :

Les virus, en effet apparaissent à l'origine des ALTF lors des infections virales aigues mais aussi dans le cadre d'autres maladies. En particulier, dans le lupus érythémateux disséminé (LED), la maladie de Hodgkin, les affections inflammatoires des colons, (Rectocolite hémorragique, maladie de Crohn). Les virus apparaissent non seulement comme un facteur intercurrent qui pourrait être plus fréquent chez ces malades immunodéprimés mais leur rôle à l'origine de ces affections a été suggéré (TALAL 1970) et la survenue d'ALTF dans les familles ou chez les personnes vivant au contact d'un malade va dans le sens de cette hypothèse.

Dans le lupus érythémateux disséminé l'incidence des ALTF est élevée chez les personnes vivant au contact étroit d'un malade qu'elles soient apparentées ou non, en particulier 50 % des conjoints des malades ont des ALTF (DE HORATIUS et coll., 1975). Ces résultats ont été confirmés dans le L E D par MALAVE et coll.,(1976) et retrouvé chez les patients ayant soit une rectocolite soit une maladie de Crohn par KORSMEYER et coll.,(1975). Ces résultats sont en faveur d'une exposition de ces individus à un agent infectant commun. Cependant un facteur génétique joue sans doute un rôle important dans la survenuedes ALTF. En effet parmi les personnes vivant au contact de malades ayant un lupus érythémateux disséminé (DE HORATIUS et coll., 1975) mais surtout chez

les malades souffrant d'une maladie inflammatoire des colons (KORSEMEYER et coll., 1975) la fréquence et le taux d'ALTF sont plus élevés chez les personnes apparentées. De plus dans la maladie de Hodgkin les personnes apparentées qu'elles vivent ou non au contact des malades ont des ALTF avec une grande fréquence et ce taux est encore plus élevé dans les familles où il y a plusieurs membres atteints (MENDIUS et coll., 1976).

Les liens existant entre cette susceptibilité à faire des ALTF et le système majeur d'histocompatibilité ne sont pas connus. RAUM et coll. (1977) ont recherché une association entre la présence de ALTF et le phénotype HLA de patient ayant des maladies rhumatismales et de leur famille. Ils ont mis en évidence une association négative entre la fréquence des ALTF et la présence du phénotype HLA B 27.

B - Rôle de la stimulation allogénique

L'introduction de cellules allogéniques s'accompagne de la production d'ALTF parfois associés à d'autres anticorps antilymphocytaires. Cette situation est réalisée par la grossesse, les transplantations et les transfusions. Des anticorps ayant les propriétés des ALTF ont été obtenus par BOYSE et coll. (1970) après injection de cellules allogéniques à une souris.

Bien que le caractère de bons répondeurs et de mauvais répondeurs puisse être génétiquement déterminé nous n'avons pas trouvé de liaison entre le groupe HLA des patients et leur modè de réponse en ALTF.

II - MECANISMES DE FORMATION DES ALTF

La formation d'autoanticorps antilymphocytaires traduit la perte de tolérance à un antigène présent sur la surface lymphocytaire. Le mécanisme de survenue des ALTF n'est pas nécessairement le même lors des infections virales et lors de la stimulation allogénique comme peut le suggérer la présence dans ce dernier cas de nombreux autres anticorps antilymphocytaires.

.-La synthèse anarchique d'anticorps par les cellules B et en particulier d'autoanticorps peut être la conséquence soit de la prolifération maligne des cellules B soit de la perturbation des processus régulateur de cette synthèse en particulier des cellules T qui l'assure. L'étude de la fréquence des ALTF dans les gammapathies monoclonales idiopathiques et malignes fait penser que le second mécanisme est plus souvent associé à la formation d'ALTF. La stimulation des lymphocytes T helper comme la destruction de la population T suppressive peut perturber cette régulation (ALLISON et coll., 1971).

Les ALTF comme le facteur rhumatoïde ou les anticorps antinucléaires ou d'autres autoanticorps pourraient représenter un autoanticorps susceptible d'être produit par des stimuli et des circonstances cliniques variées. La présence d'ALTF a d'ailleurs été associée à celle du facteur rhumatoïde par BERTRAMS et coll.(1976).

L'atteinte des fonctions des lymphocytes peut être réalisée par les virus qui peuvent infecter les cellules T ou se fixer à leur surface ou par la greffe et les traitements immunodépresseurs qui lui sont associés. L'apparition d'autoanticorps variés a d'ailleurs été décrite dans ces deux circonstances (KANTOR et coll., 1970, MILGROM 1975).

- Les virus peuvent transformer la surface du lymphocyte de manière à la rendre immunogène:

+ par altération de l'antigène qui garde cependant une réactivité croisée avec l'antigène non altéré.

+ par formation d'un complexe du type haptène-porteur entre le virus et un antigène de membrane. Les lymphocytes T spécifiques du virus permettent la sécrétion d'autoanticorps par des lymphocytes B spécifiques de l'antigène de membrane du lymphocyte.

+ l'expression du virus à la surface des lymphocytes infectés peut être suffisante pour entraîner la formation d'autoanticorps puisqu'il existe des réactions croisées entre certains virus et des antigènes de la surface des lymphocytes.

+ les cellules infectées par les virus peuvent exprimer des gènes d'histocompatibilité normalement réprimés (GARRIDO et coll., 1976).

+ il est possible enfin que les ALTF soient dirigés contre des structures caractéristiques du clone des cellules stimulées.

- Lorsque la stimulation est entraînée par l'introduction de cellules allogéniques et en particulier dans le cas de la greffe:

. Les ALTF peuvent apparaître comme une réponse humorale dégradée de faible affinité, de faible avidité et de spécificité large à des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité. Cette mauvaise qualité de la réponse serait due à l'immunodépression. Des modifications comparables de la réponse humorale après infection virale ont été décrites par MILGROM (1975). La classe IgM 19S de ces anticorps est compatible avec un effet plus spécifique des immunodépresseurs utilisés (SAL, azathioprine) sur les cellules T déprimant ainsi plus les réponses à IgG qu'à IgM.

. Il est possible également que les ALTF représen-

tent une immunisation contre les antigènes d'un système mineur d'histocompatibilité. Il a été montré que des anticorps ayant des propriétés comparables aux ALTF apparus après multiples transfusions détectent des antigènes qui segrègent en dehors du complexe majeur d'histocompatibilité (SCHACTER et coll., 1976).

. L'effet allogénique du à l'introduction d'un grand nombre de cellules peut dans certains cas rendre compte de la survenue d'ALTF en se substituant aux cellules T tolérantes.

. Enfin comme dans l'infection virale les ALTF peuvent être dirigés contre des structures caractéristiques du clone des cellules répondeuses.

III - CARACTERISTIQUES

La plupart des auteurs définissent les ALTF comme des anticorps lymphocytotoxiques à 15°C en présence de complément, sans spécificité HLA. D'autres caractéristiques des ALTF ont cependant été étudiées.

A - Classe :

NAITO en 1971 a montré que l'activité cytotoxique à froid des sérums de mononucléoses infectieuses était retrouvée dans la fraction 19 S des fractions gammaglobulinémiques préparée par séparation sur colonne Sephadex G 200 Ces résultats ont été confirmés par des études en immunofluorescence indirecte dans la mononucléose (THOMAS et coll. 1972) et dans le lupus érythémateux disséminé (WINFIELD et coll., 1975c)puis dans la plupart des cas où l'on retrouve des ALTF. En particulier, nous l'avons montré dans les gammapathies monoclonales, les NPC et chez les transplantés rénaux. Dans certains sérums de lupus érythémateux et de leucémie lymphoïde chronique des ALTF sont présents dans des cryoprécipités sous forme IgM puisque leur action est inhibée par le 2 mercaptoethanol et les anticorps anti IgM Dans quelques cas une activité cytotoxique à froid a été retrouvée dans le pic 7 S (DIAZ-JOUANEN et coll., 1977). MAYER et coll., (1976) ont montré qu'il pouvait s'agir d'une IgM 7 S.

Cependant dans quelques cas de lupus érythémateux (STASNY et coll., 1971a) et dans la maladie de Hodgkin (GRIFONI et coll., 1970) il a été montré qu'une activité cytotoxique à froid sans spécificité HLA était portée par des IgG. Dans ce dernier cas l'antigène reconnu sur les lymphocytes T est identique à celui reconnu par des ALTF de classe IgM provenant de lupus érythémateux disséminé (DEL GIACCO 1976). Dans quelques sérums de transplantés existe de même une activité cytotoxique résistante au DTT

qui pourrait donc être portée par des IgG (Tableau XVIb).

B - Spécificité

1) Rapport avec les agglutinines froides

Dans plusieurs circonstances : mononucléose infectieuse (THOMAS 1973), anémie hémolytique auto immune (PROU et coll., 1975) la présence d'agglutinines froides a été associée avec une activité cytotoxique à froid. Ces agglutinines froides anti-i mais surtout anti I pouvant dans certains cas tuer les lymphocytes car les spécificités I et i sont présentés à leur surface. On pouvait penser que la spécificité de l'activité cytotoxique des ALTF était I et i. Cependant THOMAS en 1972 par des expériences d'absorption sur globules rouges et MOTTIRONI et coll. (1970) en utilisant des lymphocytes de nouveau-nés plus riches en antigènes (I,i) ont montré que la spécificité des ALTF et des agglutinines froides étaient différentes.

2) Spécificité auto-anticorps

Comme nous l'avons montré dans les sérums de patients ayant reçu une allogreffe rénale, dans la plupart des cas les ALTF sont cytotoxiques pour les propres lymphocytes du patient (MOTTIRONI et coll., 1970, TERASAKI et coll.,1971, KNAPP et coll., 1972, BERTRAMS, 1972).

Il n'est pas possible par absorption de séparer ce pouvoir autoanticorps du pouvoir hétéro anticorps (NAITO et coll., 1971).

3) Spécificité vis à vis des lymphocytes et de leurs sous populations :

En dehors de nos travaux sur les sérums de patient ayant une gammapathie monoclonale et chez les receveurs d'allogreffe l'étude de la spécificité a surtout été faite dans la mononucléose infectieuse et le lupus érythémateux disséminé.

- l'absorption est possible sur les lymphocytes, elle est cependant parfois très difficile (NAITO et coll., 1971, STASNY et coll., 1971a). L'absorption sur les autres cellules (plaquettes, polynucléaires) est faible.

- Certains travaux ont montré une activité cytotoxique préférentielle de ces anticorps pour les lymphocytes thymiques et une faible activité cytotoxique pour les lymphocytes de patient ayant une leucémie lymphoïde chronique (LIES et coll., 1973, MAYER et coll., 1974). Pour MICHMAYR et coll. (1976) les populations enrichies en lymphocyte T à partir de lymphocytes périphériques sont plus sensibles que les populations enrichies en lymphocyte B et l'absorption des sérums par les lymphocytes B n'affecte pas la cytotoxicité contre les lymphocytes périphériques. De même, THOMAS et coll. (1972) ont montré par immunofluorescence indirecte la présence dans les sérums de mononucléoses infectieuses d'anticorps de classe Ig^M se fixant sur les lymphocytes et les lymphocytes T.

D'autres auteurs cependant trouvent dans les sérums de lupiques des anticorps ayant les deux spécificités T et B chacune pouvant être isolée par absorption (WINFIELD et coll., 1975c).

Il a aussi été rapporté que les ALTF pouvaient être absorbés sur cerveau humain mais que les éluats obtenus par chauffage lysaient aussi bien les cellules T que les cellules B (BLUESTEIN et ZVAIFLER 1975).

Enfin après greffe de moelle osseuse HLA identique des anticorps lymphocytotoxiques à froid mis en évidence par GLUCKMANN et coll. (1977) sont anti B. Ils apparaissent liés à la réaction de greffon contre l'hôte (GVH). Dans 2 des 3 cas que nous avons étudiés l'apparition d'ALTF après greffe de moelle osseuse n'était pas liée à la GVH ; ces anticorps avaient une activité auto-anticorps contre les lymphocytes du receveur et du donneur et une spécificité anti T.

Dans certaines situations où l'on rencontre des ALTF (grossesse, transplantation, transfusions multiples) des anticorps lymphocytotoxiques en présence de complément ont été mis en évidence. Leur spécificité est anti B. Ces anticorps sont dirigés contre des antigènes présents à la surface des lymphocytes B qui sont les équivalents des antigènes Ia de la souris (FERRONE et coll., 1976, ETTINGER et coll., 1977). Bien que l'on puisse absorber ces anticorps sur lymphocytes et non sur plaquettes ce ne sont pas des ALTF : leur optimum thermique est différent, ils ne sont pas absorbés sur cerveau humain, ils n'ont pas de propriété auto-anticorps excepté dans un cas mis en évidence par CROSS et coll. (1976).

Les ALTF apparaissent donc comme une population d'anticorps antilymphocytaires aux propriétés particulières dont la spécificité ne saurait être limitée dans la majorité des cas aux lymphocytes B. De nombreux arguments font penser qu'ils pourraient être dirigés contre la sous population des lymphocytes T. Cependant il n'est pas impossible qu'ils forment un groupe hétérogène contenant des anticorps de spécificités différentes. Cette hypothèse rendrait compte de la différence importante qui existe entre les sérums forts et les sérums faibles qui pourrait être non seulement quantitative mais aussi qualitative et de l'existence de sérum lysant 100 % des cellules des suspensions lymphocytaires (études personnelles dans les allogreffes rénales).

Des autoanticorps anti B mis en évidence récemment dans 20% des sérums de sujets sains par PARK, TERASAKI et coll., (1977) cytotoxiques pour les lymphocytes allogéniques pourraient être associés avec les ALTF dans les sérums forts et être pris pour des ALTF dans les sérums faibles d'autant plus que leur optimum thermique est également bas. La séparation de ces deux populations qui apparaissent différentes (spécificité, absorption des auto anti B sur plaquettes) nécessite l'utilisation lymphocytaires comme cellules cibles.

IV - ROLE DES ALTF

A - Preuve du rôle biologique des ALTF

Plusieurs éléments suggèrent que les ALTF jouent un rôle biologique in vivo. Il s'agit de leur capacité d'intervenir dans les tests biologiques in vitro, de la mise en évidence du rôle pathogène d'anticorps ayant les mêmes propriétés chez certains animaux, de l'existence de corrélations entre leur présence et des manifestations cliniques et biologiques en pathologie humaine.

1°) Rôle biologique in vitro

Hormis l'effet cytotoxique en présence de complément les ALTF sont susceptibles de bloquer ou modifier la réponse cellulaire au moment de la phase de reconnaissance et/ou à la phase effectrice. Différentes possibilités d'action des ALTF ont été testées in vitro.

Les ALTF ne peuvent servir de médiateur dans la lymphocytotoxicité anticorps dépendante (LDA) même lorsqu'ils sont sous forme IgM 7S (LEVY et coll. 1977).

Dans les sérums de patients ayant un lupus érythémateux disséminé il existe une corrélation entre la présence d'une activité cytotoxique à froid et de facteurs bloquant la LDA in vitro (DIAZ-JOUANEN 1976). Ces facteurs bloquants ne sont retrouvés que dans les fractions de poids moléculaires 7S en filtration sur colonne Sephadex G 200 cependant la participation des ALTF ne peut être exclue.

Nous avons montré que les sérums contenant des ALTF pouvaient bloquer les cultures mixtes de lymphocytes (CML). Il est possible que les ALTF soient le facteur bloquant d'autant plus que dans certains cas il est présent dans la fraction IgM 19 S. Dans d'autres circonstances où on retrouve des ALTF ce facteur bloquant est mis en évidence dans les fractions IgG 7S (WERNET et coll., 1971, REVILLARD et coll., 1973).

La plupart des fonctions in vitro des lymphocytes T peuvent être inhibée par les ALTF. Nous avons mis en évidence une inhibition de la fonction des rosettes et de la transformation des lymphocytes par le PHA et la Con A par des sérums contenant des ALTF. GRIFONI (1974) a montré que les lymphocytes T de patients ayant une maladie de Hodgkin retrouvent complètement leur fonction in vitro après élution des ALTF et que des lymphocytes T normaux perdent ces fonctions après incubation avec des anticorps lymphocytotoxiques de patients ayant une maladie de Hodgkin.

Les ALTF dont on sait qu'ils se fixent sur des lymphoblastes avec une certaine spécificité (THOMAS 1973b) pourraient intervenir également sur les lymphocytes T cytotoxiques. En effet HENNEY (1974) a montré que des anticorps ayant une spécificité pour les lymphocytes transformés par la PHA ou d'autres mitogènes avaient également une spécificité pour les lymphocytes T cytotoxiques.

L'action cytotoxique bien que la plus évidente dans les tests in vitro ne correspond pas nécessairement à l'action in vivo. En effet, la fixation d'anticorps Ig^M cytotoxiques in vitro en présence de complément de lapin entraîne plus vraisemblablement une protection qu'une destruction totale ou partielle des cellules cibles in vivo (VON BREDA 1976). Cette cytotoxicité ne serait qu'un artefact dû aux conditions in vitro du test d'autant plus que ces anticorps ne sont pas cytotoxiques en présence de complément humain.

2°) Expérimentation animale

Des anticorps de classe Ig^M cytotoxiques à froid contre les thymocytes et les lymphocytes T ayant une activité autoanticorps ont été mis en évidence dans le sérum de souris de race NZB (New Zealand Black) qui sont un modèle murin du lupus érythémateux disséminé (SHIRAI et coll., 1971).

Ces anticorps apparaissent chez la souris jeune avant la survenue des autres manifestations auto-immunes. Ils ont été associés avec l'apparition d'anomalies de la population des lymphocytes T (TALAL 1974) en particulier avec la disparition de la sous population sensible à ces anticorps (SHIRAI et coll., 1972). La disparition de cette population qui pourrait avoir une fonction régulatrice ou suppressive entraînerait l'apparition des autres phénomènes auto-immuns.

3°) Corrélations cliniques et biologiques avec la présence d'ALTF

La présence d'ALTF dans le lupus érythémateux disséminé a été correlée avec l'activité de la maladie (BUTTLER et coll., 1972, NIES et coll., 1974) et avec certaines manifestations cliniques en particulier la localisation au niveau du tissu nerveux central (BLUESTEIN et coll., 1976).

D'autres auteurs ont montré une association entre la présence d'ALTF et certains signes biologiques. Dans le lupus érythémateux disséminé la présence d'ALTF a été associée par WINFIELD et coll.(1976b) à la lymphopénie et même plus précisément à un déficit en cellules T par MILCHMAYR et coll.(1976). D'autre part BUTLER et coll.,(1972) ont montré qu'il existait une corrélation inverse entre la présence d'ALTF et le taux de C_3 et DE HORATIUS et coll. (1975b,c) une corrélation positive avec les anticorps dirigés contre l'ADN natif.

Si dans les maladies inflammatoires des colons KORSMEYER et coll.(1974) ne retrouvent pas de relation entre la présence des ALTF et le nombre de lymphocytes totaux ou T ou B ou l'état clinique ils montrent cependant que les lymphocytes de sujets ayant des ALTF sont moins sensibles à l'action des ALTF que les lymphocytes des sujets sains suggérant que leur population sensible a pu disparaître et être remplacée par une population non sensible dérivée de pool de lymphocyte de réserve.

Enfin dans la transplantation rénale KLOUDA et coll. (1976) et nous-mêmes ont montré que la présence d'ALTF dans

certaines conditions, est corrélée avec une bonne survie du greffon.

Bien qu'il n'y ait pas de preuve directe que les ALTF affectent la fonction des lymphocytes in vivo ces différents arguments suggèrent fortement que non seulement les ALTF traduisent une perturbation de l'état immunitaire mais qu'ils peuvent dans certains cas en être responsable. Le rôle in vivo des ALTF pourraît être en partie expliqué par leur caractère autoanticorps et leur spécificité anti T.

B - Rôle possible des ALTF dans les trois circonstances pathologiques que nous avons étudiées

1°) Dans les gammapathies monoclonales

Certaines des conditions favorisant le développement d'une prolifération oligo ou monoclonale : infection virale et parasitaire (GRISCELLI et coll., 1973), immunodépression (SELIGMANN et coll.(1972) sont celles qui peuvent s'accompagner d'anticorps lymphocytotoxiques froids. Il existe dans ces situations une altération des processus normaux de la régulation des B lymphocytes. Les anticorps lymphocytotoxiques peuvent apparaître comme un témoin de cette altération de la régulation des B lymphocytes mais il n'est pas exclu étant donné que ces anticorps apparaissent dirigés contre la population T qu'ils soient à l'origine de l'altération de la fonction T suppressive et donc de la sécrétion monoclonale. Nous avons vu que chez les souris NZB des anticorps cytotoxiques vis à vis des cellules T, de classe IgM, semblaient contribuer à l'apparition d'anomalies des cellules T. Ces anomalies sont responsables ultérieurement d'un déficit important des fonctions effectrices et de l'apparition de lymphomes et de gammapathies monoclonales (SHIRAI et coll., 1971, TALAL 1974).

2°) Dans les cancers du naso-pharynx

Dans les cancers du naso-pharynx les deux facteurs qui peuvent être à l'origine d'ALTF, le facteur infectant et le facteur génétique semblent jouer un rôle.

L'existence d'une association dans une population donnée entre l'incidence des NPC et le titre des ALTF dans les NPC est en accord avec l'hypothèse que le virus EBV joue un rôle dans la survenue des NPC. En effet si l'infection EBV favorise à la fois la survenue d'un NPC et la production d'ALTF alors on doit s'attendre à trouver une variation parallèle entre l'incidence du NPC dans la population générale et le taux des ALTF dans les NPC. D'autre part, bien que le taux des ALTF soit plus élevé chez les NPC chinois que chez les NPC provenant de Tunisie, la fréquence des ALTF est plus élevée dans la population tunisienne témoin que dans la population chinoise. Comme si, bien que la stimulation exogène soit plus forte dans la population tunisienne, la susceptibilité au NPC comme la capacité de faire des ALTF était plus importante dans une partie de la population chinoise. De fait, la propension d'une partie de la population chinoise à faire un NPC a été liée à un facteur génétique associé à l'haplotype HLA A02 B Sin 2 (SIMONS et coll., 1975). La capacité de faire des ALTF pourrait alors représenter un aspect génétiquement déterminé de cette susceptibilité.

Dans les infections à EBV comme dans toutes les infections virales les ALTF pourraient jouer un rôle régulateur sur la réponse immune. Chez certains individus cependant ce but pourrait être dépassé : les ALTF pourraient créer une immunodépression à l'origine dans certaines conditions de phénomènes auto-immuns et dans d'autres conditions où l'infection virale, en particulier à EBV, est associée à un cancer les ALTF pourraient détruire le clone engagé dans la réponse et ainsi favoriser la tolérance à des cellules pathologiques.

3°) Chez les receveurs d'allogreffes rénales

Les ALTF pourraient favoriser la tolérance du greffon soit en le protégeant des aggressions des cellules de l'hôte soit en perturbant son système immunitaire.

Les ALTF peuvent intervenir à tous les temps de la réponse immune après l'introduction des cellules allogéniques : au moment de la reconnaissance de l'antigène par l'hôte, contre le clone de cellules répondeuses ou en empêchant l'action des cellules effectrices.

Leur rôle comme facteur bloquant la culture mixte de lymphocytes rend possible leur intervention au moment de la reconnaissance des antigènes par les cellules compétentes. Cependant leur spécificité T suggère plutôt une action sur les cellules répondeuses, soit directement sur le clone répondeur, soit par destruction d'une population helper ou stimulation d'une population suppressive. Les ALTF pourraient agir sur ces populations soit sous forme libre soit sous forme d'immuns complexes. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de corrélation entre la présence d'immuns complexes et celle d'ALTF. En effet, sur 12 sérums provenant de 3 receveurs d'allogreffe rénale contenant des immuns complexes 4 avaient une activité cytotoxique 8 n'en avaient pas. L'activité cytotoxique des immuns complexes n'a pas été étudiée, il reste possible que certains sérums ne contenant apparemment pas d'ALTF aient des immuns complexes formés à partir d'ALTF. Il est toutefois discutable que les ALTF puissent avoir une action sur la tolérance du greffon en agissant comme facteur bloquant puisque l'existence de ces facteurs bloquants n'est en général pas corrélée ni chez l'homme (REVILLARD et coll., 1972, SINGAL et coll., 1975), ni chez le rat avec une meilleure survie du greffon (LARNER et coll., 1973).

On peut donc penser que les ALTF interviennent au niveau des phénomènes effecteurs soit sur les cellules effectrices elles-mêmes (lymphocytes non sensibilisés de LDA, T cytotoxiques) soit par fixation sur les cellules cibles en les protégeant ainsi des cellules effectrices et/ou des anticorps cytotoxiques.

UNIVERSITE DE DIJON

THESE SOUTENUE PAR MR J.M. CHALOPIN

C O N C L U S I O N S

La recherche d'anticorps lymphocytotoxiques décelable à 15°C, de classe IgM, sans spécificité HLA, ayant une propriété d'auto-anticorps, a été effectuée dans le sérum de sujets atteints d'une gammapathi monoclonale, d'un cancer du nasopharynx ou ayant reçu une allogreffe rénale.

Nous avons montré les faits suivants :

1°)Les anticorps lymphocytotoxiques froids sont beaucoup plus fréquents dans les gammapathies idiopathiques ou réactionnelles que dans les atteintes malignes du système immunitaire.

2°) Il existe dans le sérum des patients atteints de cancer du nasopharynx une variation de la fréquence et du taux de ces anticorps avec la répartition géographique et le stade de la tumeur. Le titre des anticorps froids est correllé avec certains anticorps anti-virus Ebstein-Barr.

3°) Chez les patients ayant reçu une allogreffe rénale l'apparition de ces anticorps semble correspondre à une bonne survie du greffon. Elle s'accompagne d'une élévation significative du taux des IgM plasmatiques.

D'autres corrélations entre l'évolution clinique, certains signes biologiques et la présence de ces anticorps ont pu être établies en particulier dans le cas du lupus érythémateux disséminé.

Bien que la plupart des situations cliniques dans lesquelles ces anticorps ont été décrits correspondent à une stimulation importante du système immunitaire, aucun rôle biologique précis ne peut encore leur être attribué. Nos résultats n'apportent pas de preuve directe du rôle de ces anticorps sur la fonction des lymphocytes in vivo. Ils suggèrent cependant que ces anticorps sont associés à des modifications de l'état immunitaire des patients, jouent un rôle dans la régulation immune et que leur synthèse pourrait être génétiquement déterminée. Ils incitent à la poursuite de l'étude de ces anticorps en vue de préciser leurs conditions d'apparition, leur spécificité et leur rôle.

Le Président de la Thèse :

VU et permis d'imprimer

Dijon, le 29 octobre 1977

Le Doyen,

Une partie des travaux faisant l'objet de cette thèse ont déjà été publiés. Nous tenons à remercier les co-auteurs de ces différentes publications de nous avoir permis d'utiliser ces résultats qui sont pour une part les leurs.

- CHALOPIN J.M., EKLADIOS E., REVILLARD J.P., BONNET M.C, BETUEL H., CREYSSEL R.(1975).

  Anticorps lymphocytotoxiques et gammapathies monoclonales.
  Nouv. Presse Med.,4, 1294.

- CHALOPIN J.M., EKLADIOS E., REVILLARD J.P., BONNET M.C., BETUEL H., CREYSSEL R. (1975).

  Anticorps lymphocytotoxiques dans les gammapathies monoclonales idiopathiques ou réactionnelles
  Lyon médical, 234, 507-514.

- CHALOPIN J.M., RIFLE G., (1976)

  Cinétique des anticorps lymphocytotoxiques froids après transplantation rénale
  Réunion mixte de la Société Française d'Immunologie et la Société Française de Transplantation - Institut Pasteur - PARIS.

- CHALOPIN J.M., RIFLE G. (1977)

  Cold lymphocytotoxic antibodies in human renal allograft recipients : a possible enhancing system
  Soumis pour publication Brit. Med. J.

- LAMELIN J.P., REVILLARD J.P., CHALOPIN J.M., HO J.H.C. SOUISSI T., SCWAAB G., DE THE G., (1977)

  Cold lymphocytotoxic antibodies in nasopharyngeal carcinoma
  Br. J. Cancer, 35, 426-431

ALLISON AC, DENMANN AM, BARNES RD
(1971)
Cooperating and controling functions of thymus derived lymphocytes in relation to auto immunity
Lancet, ii, 135-140

BERTRAMS J., KUWERT E., SELMAIR H., REISS H., WIESE W.
(1976)
Auto-antikörper gegen Lymphocyten (Co.Co.Cy) bei:
Patienten mit Versehiedenen Former der Hepatitis und Zirrhose
Klin-Wschr., 54, 227-233

BERTRANS J.(1973)
Leucocyte iso-and autoantibodies and disease - with special regard to HLA antibodies and autolymphocytotoxins.
Cours international de Transplantation, Lyon, 1972. Simep editions, Villeurbanne - France
p165-178

BLUESTEIN H.G., ZVAIFLER N.J. (1975)
Reactivity of lymphocytoloxic antibodies in lupus erythematosus with human brain tissue
Clin. Rev, 23 , 409 A (Abstr.)

BLUESTEIN H.G., ZVAIFLER N.J. (1976)
Brain reactive lymphocytotoxic antibodies in the serum of patients with systemic lupus erythematosus
J. Clin. Invest., 57, 509-516

BROCHIER J. (1971)
Mesure de la transformation et de la prolifération des lymphocytes humains en culture.
Path. Biol., 19, 833-848

BUTLER WT, SHARP J.T., ROSSEN R.D., LIDSKY M.O., MITTAL K.K., GARD D.A. (1972)
Relation ship of the clinical course of systemic lupus erythematosus to the presence of circulating lymphocytotoxic antibodies
Arthritis Rheum., 15, 231-238

CREYSSEL R., CORDIER J.F. (1974)
Diagnostic biochimique et valeur seniologique des immunoglobulines monoclonales sériques et urinaires II. Valeur diagnostique.
Cahiers Med. Lyon, 50, 2475-2482

CROSS D.E., GREINER R., WHITTIER F.C. (1976)
Importance of the autocontrol crossmatch in human renal transplantation
Transplantation, 21, 307-311

DAY N.K., WINFIELD J.B., GEE T, WINCHESTER R., TESHIRA H. (1976)
Evidence for immune complexes involving antilymphocyte antibodies associated with hypocomplementaema in chronic lymphocyte leukemia. (CLL)
Clin. exp. Immunol, 26, 189-195

DEHORATIUS R.J, MESSNER R.P. (1975a)
Lymphocytotoxic antibodies in family members of patients with systemic lupus erythematosus (SLE)
J .Clin .Invest, 55, 1254-1258

DEHORATIUS R.J., PILLARISETTY R., MESSNER P., TALAL N., (1975 b)
Correlation of lymphocytotoxic and antinucleic antibodies in systemic lupus erythematosus (SLE)
Clin. Rev., 23, 288

DEHORATUS R.S., PILLARISETTY R., MESSNER R.P. (1975c)
Antinucleic acid antibodies in systemic lupus erythematosus patients and their families. Incidence and correlation with lymphocytotoxic antibodies.
J. Clin Invest ., 56, 1149-1154

DEL GIACCO G.S., LEONE A.L., LOCCI F., MANCONI P.E., TOCNELLA S., MANTOVANI G., GRIFONI V. (1976)
Anti-lymphocyte antibodies in SLE and in Hodgkin's disease : a comparison by immuno fluorescence
Biomed., 25, 79-80

DESAI S.B.R., ROSKIEWICZ M., (1977)
The alloantibody response and active enhancement of some rat renal allografts
Transplantation, 23, 230-238

DETHE G., HO J.H.C., MUIR C.S., (1976)
Nasopharyngeal carcinoma. In viral infections of Humans : Epidemiology and Control. Ed. A.S. Evans. New York : Plenum Press Corporation.
p. 539-546

DIAZ-JOUANEN E.,STRICKLAND R.G., WILLIAMS R.C. (1975)
Studies of human lymphocyte in the newborn and the aged
Amer.J.Med.,58, 620-628

DIAZ-JOUANEN E., BANKHURST A.D., MESSNER R.P., WILLIAMS R.C. (1976)
Serum and synovial fluid inhibitors of antibody-mediated lymphocytotoxicity in rhumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus.
Arthristis Rheum., 19, 142-149

ETTENGER R.B., TERASAKI P., TING A., MALEKZADEIN M.H., PENNIS A.J., UTTENBOLAART C., GARRISON R., FINE R.N. (1976)
Anti B lymphocytotoxins in renal allograft rejection
N. Engl.J.Med., 295, 305-309

FERRONE S., MICKEY M.R., TERASAKI PI., REISFELD R.A., PELLEGRINO M.A. (1976)
Humoral sensitization in parous women cytotoxic antibodies to non HLA antigens
Transplantation, 22, 61-68

FERRONE S., JALASZ N.A., COLLINS G., PELLEGRINO M.A. (1977)
Humoral immunity in kidney transplantation recipients
Transplantation, 23, 113-118

GARRIDO F., SCHIRRMACHER V., FESTENSTEIN H. (1976)
H 2-like specificities of foreign haplotypes appearing on a mouse sarcoma after vaccinia virus infection
Nature, 259, 228-230

GASPAROTTO G., SEMENZATO G., F. TOSATO, CAZZARO G., ADADORIG (1976)
Etude de l'immunologie cellulaire dans les gammapathies monoclonales malignes et bénignes
Schweiz-Med.Wschr.106, 1823-1825

GENTH E., HARTL W., HANNIG H., STEFFENSE (1976)
Zur Frage der Lymphozytopenie beim Pseudo-Lupus erythematodes Syndrom
Blut, 33, 253-264

GLINSKI W., GERSHWIN M.E., STEINBERG A.D. (1976)
Fraction of cells on a discontinous ficoll gradient. Study of subpopulation on human T cells using anti T cell antibodies from patients with systemic lupus erythematosus
J. Clin. Invest., 57, 604-614

GLUCKMAN E., ANDERSEN E., LEPAGE V., DAUSSET J., (1977)
Non HLA lymphocytotoxic antibodies during GVHD after Bone Marrow transplantation
Transplant.Proc., 9, 761-763

GOLDBERG L.S., CUNNINEHAM J.E., TERASAKI P.I. (1972)
Lymphocytotoxins and penicious anemia
Blood, 39, 868-865

GRIFONI V., DEL GIACCO G.S., TOGUELLA S. (1970)
Lymphocytotoxins in Hodgkin's disease
Ital.J. Immunol.Immunopathol., 1, 21-31

GRIFONI V. (1973)
Recent immunological findings in Hodgkin's disease
Tumori, 59, 363-374

GRISCELLI C., DESNON G., GNY B., FROMMEL O. (1973)
Congenital toxoplasmosis : fetal synthesis of oligoclonal immunoglobulin G in infrauterine infection
J. Pediat., 83, 20-26

HENLE G., HENLE W., (1966)
Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's Lymphoma
J. Bact.,91, 1248-1253

HENNEY C.S. (1974)
KILLER T CELLS
N. Engl J. Med. 291, 1357-1358
(Editorial)

HO J.H.C. (1970)
The natural History and Treatment of Nasopharyngeal carcinoma. In Oncology
Proc. 10th Int. Cancer Congress, 4, 1-10
Chicago : Year Book Medical Publishers

HORWITZ D.A., COUNSAR J.B. (1975)
A relationship between impaired cellular immunity, humoral suppression of lymphocyte function and severity of systemic lupus erythematosus
Amer. J. Med., 58, 829-835

HUANG S.H., LATTOS D.B., NELSON D.B., REEB K., HONG R. (1973)
Antibody associated lymphotoxin in acute infection
J. Clin. Invest., 52,1033-1040

HUSBY G., MESSNER R.P. (1977)
Detection of antilymphocyte antibodies in patients with systemic lupus erythematosus bu indirect immuno fluorescence on acetone fixed lymphocytes
J. Lab. Clin.Med.,89, 240-248

KANTOR G.L., GOLBERG L.S., JOHNSON B.M., DERECHIN M.M., BARNETT G.V. (1970)
Immunologic abnormalities induced by post perfusion cytomegalus infection
Ann. Intern. Med., 73, 553-558

KLOUDA P.T., JEANNET M. (1976)
Cold and warm antibodies and graft survival in kidney allograft
Lancet, i, 876-877

KNAPP W., PATEISKY K. (1972)
Lymphocytotoxins in myasthenia gravis
Z. Immun. Forsch.Bd, 144, 329-334

KORSMEYER S.J., STRICKLAND R.G., WILSON I.D., (1974)
Serum lymphocytotoxic and lymphocytophilic antibody activity in inflammatory bowel disease
Gastro enterology, 67, 578-583

KORSMEYER S.J., WILLIAMS R.C., WILSON I.D., Striclend R.D., (1975)
Lymphocytotoxic antibody in inflammatory bowel disease.
A family study
N.Engl.J.Med., 293, 1117-1120

KREISLER M.J., HIRATA A.A., TERASAKI P.I(1970)
Cytotoxins in disease.III:Antibodies against lymphocytes produced by vaccination
Transplantation, 10, 411-415

KREISLER M., NAITO S., TERASAKI P., (1971)
Cytotoxins in disease : Various diseases
Transplant. Proc. 3, 112-114

KUVVERT E., BERTRAMS J. (1972)
Leukocyte iso and outo antibodies in multiple sclerosis (MS) with special regard to complement dependent cold-reactive autolymphocytotoxins (CoCoCy)
Eur. Neurol, 7, 65-73

LARNER B.J., FICHT B.W. (1973)
Inhibition of rat mixed lymphocyte culture by hyperimmune alloantisera. Lack of correlation with allograft enhancing activity.
Transplantation, 16, 54-58

LEVY S., TONGIO M.M., MAYER S., (1977)
Etude du test de lymphocytotoxicité anticorps dépendante en fonction de la nature de l'anticorps
Path. Biol. 25, 175-177

LIES R.B., MESSNER R.P., WILLIAMS R.C. (1973)
Relative T. Cell specificity of lymphocytotoxins from patients with systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum., 16, 369-375

MALAVE I, PAPA R., LAYRISSE A. (1976)
Lymphocytotoxic antibodies in patients and their relatives systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum. 19, 700-704

MAYER S., FALKENRODT A., TONGIO MM. (1973a)
Cold lymphocytotoxins in infections and parasite infestation
Tissue Antigen, 3, 431-438

MAYER S., FALKENRODT A., TONGIO MM., BERREBI A. (1973b)
Les lymphocytotoxines froides. Etude critique de la technique
Path Biol 21, 967-972

MAYER S., FALKENRODT, TONGIO MM. (1974a)
HLA antibodies and cold lymphocytotoxins
Tissue Antigens, 4, 387-394

MAYER S., FALKENRODT A., TONGIO MM. (1974b)
Anomalous reactivity of sera containing cold lymphocytotoxins with chronic leukemic lymphocytes
Tissue Antigens, 4, 266-267

MAYER S., FALKENRODT A., TONGIO MM. (1975)
Lymphocytotoxines froides : relation avec certaines circonstances physiologiques et pathologiques
Ann. Immunol. (Inst. PASTEUR), 126C, 621-627

MAYER S., HAUPTMANN G., TONGIO MM. (1976)
Cold lymphocytotoxins. A chromatographical study.
Vox Sang., 3, 174-182

MENDIUS J.R., DE HORATIUS R.J., MESSNER R.P., WILLIAMS R.C. (1976)
Family distribution of lymphocytotoxins in Hodgkin's disease.
Ann. Intern. Med., 84, 151-156

MESSNER R.P., LINDSTROM F.D., WILLIAMS R.C. (1973)
Peripheral blood lymphocyte cell surface markers during the course of systemic lupus erythematosus
J. Clin. Invest., 52, 3046-3056

MESSNER R.P., KENNEDY M.S., JELINEK J.F. (1975)
Antilymphocyte antibodies in systemic lupus erythematosus
Arthritis Rheum, 18, 201-206

MICHLMAYR G., PATHOULI C., HUBER G., HUBER H.(1976)
Antibodies for T lymphocytes in systemic lupus erythematosus
Clin. Exp. Immunol., 24, 18-25

MILGROM F. (1975) Some serologic aspect of transplantation
Transplant. Proc., 8, 188-187

MITTAL K.K., MICKEY M.R., SINGAL D.P., TERASAKI P.I. (1968)
Serotyping for homo-transplantation XVIII Refinement of micro-droplet cytotoxicity test.
Transplantation, 6, 913-918

MITTAL K.K., ROSSEN R.D., SHARP J.T. (1970)
Lymphocyte cytotoxic antibodies in systemic lupus erythematosus
Nature (Lond), 225, 1255-56

MITTAL K.K., KAHAN B.D., BERGAN J.J. (1975)
Donor HLA incompatibility and lymphocytotoxic antibody response in human renal transplantation
Transplantation, 19, 410-415

MOTTIRONI V.D., TERASAKI P.I. (1970)
Lymphocytotoxins in disease. I Infections mononucleosis, ruhella and measles. Histocompatibility Testing, p 301-308. Munksgaard. Copenhague

MULLER N., KOENIG H.O., (1977)
Kälte-lymphozytotoxische Antikörper (CoCoCy) in serum von Cervix-karzinom-Patientinner (CCa)
Blut, 34, 479-483

NAITO S., MICKEY M.R., HIRATA A., TERASAKI P.I. (1971)
Autolymphocytotoxins following immunization by Pregnency, transplantation and disease.
Tissue Antigens, 1, 219-228

NIES K.M., BROWN J.C., DUBOIS E.L., QUISMORIO F.P., FRIOU G.J., TERASAKI P. (1974)
Histocompatibility (HLA) antigens and lymphocytotoxic antibodies in systemic lupus erythematosus (LED)
Arthritis Rheum., 17, 347-402

NORDBRING F., JOHANSSON S.L.D. (1971)
IgM in cytomegalovirus mononucleosis
Scand. J. Infect Dis., 3, 87-92

OOI B.S. ORLINA A.R., PESCE A.J., (1974)
Lymphocytotoxic antibodies in patients with systemic lupus erythematosus
Clin. Exp. Immunol, 17, 236-243

OOI B.S., ORLINA A.R., MASAMIS L. (1974b)
Lymphocytotoxins in primary renal disease
Lancet, ii, 1348-1350

OOI B.S., ORLINA A.R., MASAMIS L., FIRST M.R., POLLACK V.E., OOI Y.M.(1974c
Lymphocytotoxins in aging
Transplantation, 18, 190-192

PANG G.T.M., BEGULEY DM., WILSON JD (1974)
Spontaneous rosette as a T lymphocyte marker : a modified method giving consistent SRBC results rosette
J. Immunol. Meth., 4, 41-48

PARK M.S., TERASAKI PI, BERNOCO D. (1977)
Autoantibody against B lymphocytes
Lancet, ii,465-467

PERRONE S., COOPER N.R., PELLEGRINO M.A., REISFELO R.A. (1971)
The lymphocytotoxic reaction : the mechanism of rabbit complement action.
J. Immunol.,107, 939-947

PIROFSKY B., ROSNER E.R. (1974)
DTT Test : a new method to differenciate IgM and IgG erythrocytes antibodies
Vox Sang,27, 480-488

PROU O., D'ANBRUSIA A.M., MULLER JY.(1975)
Lymphocytotoxines froides dans diverses situations pathologiques
Rev. Fr. Transfus.,18, 351-360

RAUM D., GLASS D., SOTER NA., STILLMAN SS., CARPENTIER C.B., SCHUR PH (197
Lymphocytotoxic antibodies : HLA antigen associations, disease associatio
and family studies.
Arthritis. Rheum.,20, 933-936

REEDMAN B.M., KLEIN G. (1973)
Cellular localization of an Epstein-Barr Virus (EBV) associated complemen
fixing Antigen in Producer and non Producer lymphoblastoid cell lines.
Int. J. Cancer,11, 499-504

REVILLARD JP.,ROBERT M.,BETUEL H.,LATOUR M.,BONNEAU M.,BROCHIER J.,TRAEGER J
Inhibition of the mixed leukocyte reaction by antibodies. (1972)
Transplant. Proc.,4, 173-176

REVILLARD JP.,ROBERT M., DUPONT E.,BETUEL H.,RIFLE G.,TRAEGER J.,(1973)
Inhibition of mixed lymphocyte culture by alloantibodies in renal transplantation and on pregnancy.
Transplant. Proc., 5, 331 - 336

ROSEN A., GERGELY P., JONDAL M., KLEIN G., BRITTON S., (1977)
Polyclonal Ig production after Epstein-Barr virus infection of human lymphocytes in vitro
Nature, 267, 52- 53

ROY R., LANCHANCE J.G., DAGUILLARD F. (1976)
Les lymphocytotoxines froides chez les receveurs de greffe rénale
Ann. Immunol.(Inst. PASTEUR), 128 C, 77-80

SALVATIERRA O., PERKINS H.A., AMEND W., FEDUSKA N.J., DUCA K.M., POTTER D.E., COCHRUM K.C. (1977)
The influence of presensitization on graft survival rate.
Surgery, 81, 146-151

SCHACTER B., POLLARD K., MAYLAC F., HUMPHREY R.L., HSU S.H., BIAS WB (1976)
T cell-specific human alloantiseradetecting antigens segregating outside th major histocompatibility complex.
Transplantation, 22, 604-611

SELIGMANN M., DANON F., CLAUVEL J.P. (1972)
Natural history of monoclonal immunoglobulins
Brit. Med.J., 2, 321

SHIRAI T., MELLORS R.C. (1971)
Natural thymocytotoxic autoantibody and reactive antigen in New Zealand Black and other mice
Proc.Nat. Acad.Sci.(USA), 68, 1412-1415

SHIRAI T., YOSHIKI T., MELLORS R.C. (1972)
Age-disease of cells sensitive to an auto antibody specific for thymocytes and thymus-dependent lymphocytes in NZB mice
Clin.exp.Immunol., 12, 455-464

SIMONS MJ., WEB G.B., DAY N.E., CHAN S.H., SHANMUGARATNAM K., DETHE G. (1975)
Probable identification of an HLA second locus antigen associated with the High Risk of Nasopharungeal carcinoma
Lancet, i, 142-144

SINGAL D.P., YOUNGLAI E.V., NAIPAUL N. (1975)
Inhibition of the mixed leucocyte culture reaction by plasma from renal transplant recipients
Tissue Antigen, 5, 19-25

SPLENGER G.A., SPENGLER H., DEWECK AL. (1972)
Lymphocytotoxic activities of sera from myeloma and other paraproteinemic patients : XXè congrès Colloquium on protides of the Biological Fluids.
Brugges 223-228

STASNY P., ZIFF M. (1971 a)
Direct lysis of lymphocytes by complement in patients with systemic lupus erythematosus
Arthritis Rheum., 14, 733-736

STASNY P., ZIFF M. (1971 b)
Antibodies against cell membrane constituant in systemic lupus erythematosus and related diseases : I. Cytotoxic effect of serum from patients with systemic lupus erythematosus for allogeneic and for autologous lymphocytes.
Clin. Exp.Immunol., 8, 543-550

STRICKLAND R.G., FRIEDLER E.M., HENOERSON C.A.
Serum lymphocytotoxins in inflammatory bowel disease : studies of frequency and specificity for lymphocytes subpopulations
Clin. Exp. Immunol., 21, 384-393

SUTTON R.N.P., EDMOND R.T.D., THOMAS D.B., DONNIACH D., (1974)
The occurence of auto antibodies in infection mononucleosis
Clin. Exp. Immunol., 17, 427-436

TALAL N. (1970)
Immunologic and viral factors in the pathogenis of systemic lupus erythematosus
Arthritis Rheum., 13, 887-894

TALAL N. (1972)
Auto immunity and lymphoid malignancy in New Zealand mice
In Progress in Clinical Immunology (New York Grune et Stratton, 022, 101

TERASAKI P.I., MOTTIRON V.D., BARNET E.V. (1970)
Cytotoxins in disease autocytotoxins in lupus
N. Engl. J. Med., 283, 724-728

THOMAS D.B. (1972)
Antibodies to membrane antigen cannon to thymocyte and subpopulation of lymphocyte in infectious mononucleosis Sera.
Lancet, i, 399-400

THOMAS D.B.(1973)
Antibodies specific for human T Lymphocytes in cold agglutinin and lymphocytotoxic sera
Europ. J. Immunol.,3, 824-828

THOMAS DB. PHILLIP B. (1973)
Evidence for membrane antigen (s) specific for human B. lymphoblasts
Clin. exp. Immunol., 14, 91-96

TING A., HASEGAWA T., FERRONES., REINFELD RA. (1973)
Presensitization detected by sensitive cross-match
Transplant.Proc.,5, 813-814

VAN BREDA, VRIESMAN P.J.C., SWANEN-SIERAG L., VLEK L.F.M. (1975)
Cytotoxic and enhancing properties of early M alloantibodies elicited by first set renal allografts. In vitro and invivo studies with rat and guinea pig.
Transplantation, 20, 385-393

WATERS H., SMITH G.S., FISHKIN B., TANAKA KR., WALFORD RL. (1971)
Lymphocyte iso antibodies in auto allergic and dysgammaglobulinemia states
Transplant. Proc., 3, 145-148

WERNET P., FUTINO M., THOBURN R. (1973)
Blockage of lymphocyte surface antigens and the shedding phenomenon in systemic lupus erythematosus
Arthritis Rheum., 16, 137-138 (abstr)

WERNET P., KUNKEL H.G. (1973 b)
Demonstration of specific T lymphocyte membrane antigens associated with antibodies inbiting the Mixed Leukocyte Culture in Man
Transplant.Proc. 5, 1875-81

WINCHESTER R.J.,WINFIELD J.B.,SIEGAL F., WERNET P., BENTWICH Z., KUNKEL H.G., (1974)
Analyses of lymphocytes from patients with rhumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Occurence of interfering cold reactive antilymphocyte antibodies
J. Clin. Invest., 54, 1082-1092

WINFIELD J.B., WINCHESTER F.J., WERNET P. (1974)
Different types of antilymphocyte antibodies in the sera of systemic lupus erythemalosus patients.
Clin. Res., 22, 432 A

WINFIELD J.B., WINCHESTER R.J., WERNET P. (1975 a)
Specific concentration of antilymphocyte antibodies in the serum cryoprecipitates of patients with systemic lupus erythematosus
Clin.Exp.Immunol., 19, 399-406

WINFIELD J.B., WINCHESTER R.J., WERNET P., FUSKUNKEL H.G. (1975b)
Nature of cold-reactive antibodies to lymphocyte surface determinents in systemic lupus erythematosus
Arthritis Rheum., 18, 1-8

WINFIELD J.B., WINCHESTER R.J., KUNKEL H.G. (1975)
Association of cold-reactive antilymphocyte antibodies with lymphophenia in systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum., 18, 587

WILLIAMS R.C., LIES R.B., MESSNER R.P. (1973)
Inhibition of mixed leucocyte culture responses by serum and γ globulin fro
certain patients with connective tissue dissorders.
Arthritis Rheum., 16, 597-606

WILLIAMS R.C., BANKHURST A.M., MONTAND J.D. (1976)
IgG antilymphocyte antibodies in SLE dedected by ^{125}I protein A
Arthritis Rheum.,19, 1261-1269

WOLLHEIM F.A., WILLIAMS R.C. (1966)
Increase of antibody levels in infectious mononucleosis (IM)
N. Engl. J. Med., 274, 61-67

WORTIS H.H., COOPER A.G., BROWN M.C. (1973)
Inhibition of human lymphocyterossetingby anti T sera
Nature,263,109

ZVAIFLER N.J.,BLUESTEIN H.G. (1976)
Lymphocytotoxic antibody activity in cryoprecipitations from serum of
patients with systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum.,19, 844-850

TABLE DES MATIERES

Page

INTRODUCTION 2

PREMIERE PARTIE

METHODES D'ETUDES DES ANTICORPS LYMPHCYTOTOXIQUES FROIDS 3

I - Méthodes de détection des ALTF 4

A - La lymphocytotoxicité 4

-Technique de la lymphocytotoxicité.. 4

-Etude des paramètres influençant la réaction de lymphocytotoxicité..... 8

-Protocole utilisé 13

-Interprétation des résultats 13

B - Autres méthodes 16

II - Etude de la classe des ALTF 18

III- Etude de l'activité auto anticorps 20

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DES ALTF DANS TROIS CIRCONSTANCES PATHOLOGIQUES 21

I - ALTF dans les gammapathies monoclonales. 22

A) Matériel 22

B) Méthodes 22

C) Résultats 23

D) Conclusion 25

II - ALTF dans les cancers du naso-pharynx.. 27

A) Matériel et méthodes 27

B) Résultats 28

C) Conclusion 30

Page

III - ALTF chez les receveurs d'allogreffes rénales 36

A) Matériel et méthodes 36

B) Résultats 37

C) Conclusion 44

IV - Caractéristiques des ALTF 51

A) Classe 51

B) Spécificité 51

C) Rôle biologique in vitro 57

TROISIEME PARTIE

DISCUSSION 62

I - CIRCONSTANCES DE SURVENUE DES ALTF... 63

A) Rôle des virus 68

B) Rôle de la stimulation allogénique 69

II - MECANISME DE FORMATION DES ALTF 70

III - CARACTERISTIQUES 73

A) Classe 73

B) Spécificité 74

IV - ROLE DES ALTF

A) Preuve du rôle biologique des ALTF 77

B) Rôle possible des ALTF dans les trois circonstances étudiées.... 80

- Gammapathie monoclonale 80

- Cancer du nasopharynx 81

- Transplantation rénale 82

BIBLIOGRAPHIE